DETERMINACION DEL CICLO REPRODUCTIVO Y CINETICA DE LA GAMETOGENESIS EN DOS POBLACIONES NATURALES DE *Fissurella latimarginata* SOWERBY, 1835 (GASTROPODA: PROSOBRANCHIA: FISSURELLIDAE)

TESIS

Instituto de Oceanología
Universidad de Valparaíso

Para optar al Grado de Licenciado y al Título Profesional de Biólogo Marino

M
B562d
1999

CHRISTIAN MANUEL BETANCOURT GUERRA

1999

M
(3562 d
1999

Universidad de Valparaíso
Instituto de Oceanología
Carrera de Biología Marina

DETERMINACIÓN DEL CICLO REPRODUCTIVO Y CINÉTICA DE LA GAMETOGÉNESIS EN DOS POBLACIONES NATURALES DE *Fissurella latimarginata* SOWERBY, 1835 (GASTROPODA : PROSOBRANCHIA : FISSURELLIDAE)

UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO
00174
BIBLIOTECA
FACULTAD DE CS. DEL MAR Y DE RECURSOS NATURALES

TESIS

Presentada al
Instituto de Oceanología
Universidad de Valparaíso

Para optar al Grado de Licenciado en Biología Marina

Por

CHRISTIAN BETANCOURT GUERRA

Director de Tesis

DONALD BROWN GONZÁLEZ

1999

Prey. 62253

DETERMINACIÓN DEL CICLO REPRODUCTIVO Y CINÉTICA DE LA GAMETOGÉNESIS EN DOS POBLACIONES NATURALES DE *Fissurella latimarginata* SOWERBY, 1835 (GASTROPODA : PROSOBRANCHIA : FISSURELLIDAE)

TESIS

Presentada al

Instituto de Oceanología

Universidad de Valparaíso

Para optar al Grado de Licenciado en Biología Marina

Por

CHRISTIAN MANUEL BETANCOURT GUERRA

Esta tesis es parte de los Requisitos para obtener

el grado de

Licenciado en Biología Marina y el título de Biólogo Marino

Christian Manuel Betancourt Guerra

Aprobado por la comisión de Tesis en julio de 1999

Prof. Donald Brown González

Director de Tesis

Prof. Doris Oliva Ekelund

Co Director de Tesis

Prof. Luis Ramorino Meschi

Prof. Bernardita Campos Mala

TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA	vi
LISTA DE TABLAS	vii
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMEN	xiv
INTRODUCCIÓN	1
Aspectos reproductivos generales	1
Estudios de ciclo reproductivo y cinética de la gametogénesis	8
Planteamiento del problema	14
HIPÓTESIS	18
OBJETIVOS	19
Objetivo general	19
Objetivos específicos	19
Presentación de la especie	20
MATERIALES Y MÉTODOS	21
Localidades de estudio	21
Determinación cualitativa del ciclo reproductivo	21
Tratamiento de las muestras	21
Cálculo del índice gonadosomático	25
Determinación cuantitativa de la cinética de la gametogénesis	26

RESULTADOS 32

Ciclo reproductivo cualitativo de ***Fissurella latimarginata*** 32

Ciclo reproductivo cuantitativo de ***Fissurella latimarginata*** 39

Variación del índice gonadosomático (IGS) 39

Variación de la línea germinal en machos de ***Fissurella latimarginata*** 41

Variación de la línea germinal en hembras de ***Fissurella latimarginata*** 45

DISCUSIÓN 48

CONCLUSIONES 64

LITERATURA CITADA 66

ABREVIATURAS 81

TABLAS 82

FIGURAS 106

AGRADECIMIENTOS

Finalmente y después de una gran cantidad de tiempo invertido en una pensada y seria investigación, es necesario agradecer el apoyo en la realización de este trabajo de tesis a un sinnúmero de personas que en forma desinteresada colaboraron en las diferentes etapas de su desarrollo. Se agradece en forma muy especial al profesor Donald Brown González, director de esta tesis y responsable absoluto de mi creciente interés por el aspecto reproductivo de los invertebrados marinos, tema que he desarrollado con satisfacción y con mucho esfuerzo y dedicación durante estos últimos años. También debo agradecer al Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura (FIP) por el financiamiento otorgado. Por último, agradezco la calidad humana de un grupo de colegas con los que compartí una etapa decisiva de mi formación profesional, vayan para ellos mis sinceros deseos de éxito. Gracias a todos.

DEDICATORIA

A mis padres. . . . .

por su esforzado apoyo y por enseñarme el camino que construir a diario

A Lucía. . . . .

por no rendirme

A Juan y Olivia. . . .

por la infaltable palabra de aliento

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1.	Patrones de ciclo reproductivo, según diferentes autores, de algunas especies del género ***Fissurellla***	82
2.	Distribución mensual de la frecuencia (%) de estados gonadales en ***F. latimarginata***. Punta Coloso. Machos	84
3.	Distribución mensual de la frecuencia (%) de estados gonadales en ***F. latimarginata***. Punta Coloso. Hembras	84
4.	Distribución mensual de la frecuencia (%) de estados gonadales en ***F. latimarginata***. Punta Coloso. Total poblacional	85
5.	Distribución mensual de la frecuencia (%) de estados gonadales en ***F. latimarginata***. Los Vilos. Machos	86
6.	Distribución mensual de la frecuencia (%) de estados gonadales en ***F. latimarginata***. Los Vilos. Hembras	86
7.	Distribución mensual de la frecuencia (%) de estados gonadales en ***F. latimarginata***. Los Vilos. Total poblacional	87
8.	Resultados del índice gonadosomático (IGS) en ***F. latimarginata***. Punta Coloso. Machos, hembras y total poblacional por mes	88
9.	Resultados del índice gonadosomático (IGS) en ***F. latimarginata***. Machos, hembras y total poblacional por muestreo. Los Vilos	88
10.	Resultados del análisis de varianza de 1 vía (ANDEVA, p= 0,05) para el índice gonadosomático por localidad, sexo y mes	89

11 Resultados de las mediciones mensuales de la altura de la línea germinal en machos de ***Fissurella latimarginata***. Punta Coloso..... 90

12. Resultados de las mediciones mensuales de la altura de la línea germinal en machos de ***Fissurella latimarginata***. Los Vilos..... 90

13. Resultados del análisis de varianza de una vía (ANDEVA, p= 0,05), para mediciones de la altura de la línea germinal en machos, por mes, localidad y tipo celular. 91

14. Resultados de la comparación entre promedios mensuales de la altura de la línea germinal temprana según el método de ***T´*** Spjotvoll & Stoline. Punta Coloso. Machos..... 92

15. Resultados de la comparación entre promedios mensuales de altura de la línea germinal avanzada según el método ***T´*** de Spjotvoll & Stoline. Punta Coloso. Machos 92

16. Rangos de talla (f%) de la altura de la línea germinal temprana, por mes. Punta Coloso. Machos..... 93

17. Rangos de talla (f%) de altura de la línea germinal avanzada, por mes. Punta Coloso. Machos..... 93

18. Residuos estandarizados de los rangos de talla de la altura de la línea germinal temprana. Punta Coloso. Machos..... 94

19. Residuos estandarizados de los rangos de talla de la altura de la línea germinal avanzada. Punta Coloso. Machos..... 94

20. Resultados de la comparación de los promedios mensuales de la altura de la línea germinal temprana según el método ***T´*** de Spjotvoll & Stoline. Los Vilos. Machos 95

21 Resultados de la comparación de promedios mensuales de la altura de la línea germinal avanzada según el método *T´* de Spjotvoll & Stoline. Los Vilos. Machos 95

22. Rangos de talla (f%) de la altura de la línea germinal temprana, por mes. Los Vilos. Machos..... 96

23. Rangos de talla (f%) de la altura de la línea germinal avanzada, por mes. Los Vilos. Machos..... 96

24. Residuos estandarizados de los rangos de talla de la altura de la línea germinal temprana.Los Vilos. Machos..... 97

25. Residuos estandarizados de los rangos de talla de la altura de la línea germinal avanzada (LGA).Los Vilos. Machos..... 97

26. Resultados del recuento por área de tipos celulares de ***F. latimarginata***. Punta Coloso. Hembras..... 98

27. Resultados del recuento por área de tipos celulares de ***F. latimarginata***. Los Vilos. Hembras..... 98

28. Resultados del análisis de varianza de una vía (ANDEVA, p=0,05) para el número de tipos celulares en hembras de ***F. latimarginata***, por tipo celular, mes y localidad..... 99

29. Resultados de la comparación de promedios mensuales del número de ovocitos previtelogénicos según el método *T´* de Spjotvoll & Stoline. Punta Coloso. Hembras..... 100

30. Resultados de la comparación de promedios mensuales del número de ovocitos vitelogénicos adheridos según el método *T´* de Spjotvoll & Stoline. Punta Coloso. Hembras..... 100

31 Resultados de la comparación de promedios mensuales del número de ovocitos vitelogénicos libres según el método *T´* de Spjotvoll & Stoline. Punta Coloso. Hembras 101

32. Residuos estandarizados del número de ovocitos por área en individuos de ***F. latimarginata***. Punta Coloso. Hembras..... 102

33 Resultados de la comparación de promedios mensuales del número de ovocitos previtelogénicos según el método ***T´*** de Spjotvoll & Stoline. Los Vilos. Hembras..... 103

34. Resultados de la comparación de promedios mensuales del número de ovocitos vitelogénicos adheridos según el método ***T´*** de Spjotvoll & Stoline. Los Vilos. Hembras 103

35. Resultados de la comparación de promedios mensuales del número de ovocitos vitelogénicos libres según el método ***T´*** de Spjotvoll & Stoline. Los Vilos. Hembras 104

36. Residuos estandarizados del número de ovocitos por área en individuos de ***F. latimarginata***. Los Vilos. Hembras..... 105

LISTA DE FIGURAS

Figura

1 Ubicación geográfica de las localidades de muestreo..... 106

2 Ejemplar de ***Fissurella latimarginata***..... 107

3 MD1. Estado de desarrollo inicial masculino..... 108

4 FD1. Estado de desarrollo inicial femenino..... 108

5 MD2. Estado de desarrollo avanzado masculino..... 108

6 FD2. Estado de desarrollo avanzado femenino..... 108

7 MD3. Estado de desarrollo total masculino..... 109

8 FD3. Estado de desarrollo total femenino..... 109

9 MR1. Estado de desarrollo inicial masculino..... 109

10 FR1. Estado de desarollo inicial femenino..... 109

11 MR2. Estado de regresión final masculino..... 110

12 FR2. Estado de regresión final femenino..... 110

13 (A) Septo gonadal de un macho mostrando la distribución centrífuga radial de las regiones de células germinales. (B) Recuento de ovocitos por video microscopía..... 111

14 Distribución mensual de frecuencias (%) de estados gonadales cualitativos en ***Fissurella latimarginata***. Punta Coloso. (A) Machos; (B) Hembras..... 112

15 Distribución mensual de frecuencias (%) de estados gonadales cualitativos en ***Fissurella latimarginata***. Punta Coloso. Total poblacional..... 113

16 Distribución mensual de frecuencias (%) de estados gonadales cualitativos en ***Fissurella latimarginata***. Los Vilos. (A) Machos; (B) Hembras..... 114

17 Distribución de frecuencias (%) de estados gonadales cualitativos en ***Fissurella latimarginata***. Los Vilos. Total poblacional..... 115

18 Índice gonadosomático mensual de ***Fissurella latimarginata*** por localidad. Machos, hembras y total poblacional . (A):Punta Coloso, (B): Los Vilos..... 116

19 Distribución mensual de tallas de la altura de la línea germinal de ***Fissurella latimarginata***. Punta Coloso. Machos. (A): línea germinal temprana, (B): línea germinal avanzada..... 117

20 Distribución mensual de tallas de la altura de la línea germinal de ***Fissurella latimarginata***. Los Vilos. Machos. Comparación del número de tipos celulares femeninos por localidad. (A) Los Vilos; (B) Punta Coloso..... 118

21 Composición por rangos de talla de la altura de la línea germinal temprana de ***Fissurella latimarginata***. Punta Coloso. Machos..... 119

22 Composición por rangos de talla de la línea germinal avanzada de ***Fissurella latimarginata***. Punta Coloso. Machos..... 120

23 Composición por rangos de talla de la línea germinal temprana de ***Fissurella latimarginata***. Los Vilos. Machos..... 121

24 Composición por rangos de talla de la línea germinal avanzada de ***Fissurella latimarginata***. Los Vilos. Machos..... 122

25 Distribución mensual del número de ovocitos por área de ***Fissurella latimarginata*** Punta Coloso. Hembras. (A): ovocitos previtelogénicos; (B): ovocitos vitelogénicos adheridos; (C): ovocitos vitelogénicos libres..... 123

26 Distribución mensual del número de ovocitos por área. Hembras. Los Vilos. Hembras. (A): ovocitos previtelogénicos; (B): ovocitos vitelogénicos adheridos; (C): ovocitos vitelogénicos libres 124

27 Comparación del número de tipos celulares de la línea germinal femenina. (A) Punta Coloso; (B) Los Vilos..... 125

RESUMEN

La ocurrencia de distintos patrones del ciclo reproductivo en los moluscos se ve influenciada por un sinnúmero de factores que en conjunto los determinan. La cinética de la gametogénesis estaría incidiendo en gran parte en sus características. Las diferencias existentes en la gametogénesis femenina y masculina hasta ahora han determinado que los métodos utilizados para estudiar el aspecto reproductivo de los moluscos, se concentre casi en su totalidad en las hembras. Al mismo tiempo, los métodos utilizados no entregan resultados comparables ni un buen grado de profundización en el tema. En este sentido, la hipótesis de trabajo fue determinar si la cinética de la línea germinal (♀ y ♂) durante la gametogénesis de ***Fissurella latimarginata***, expresa los patrones de ciclo reproductivo en dos poblaciones (Punta Coloso, II región y Los Vilos, IV región). Esto se realizó mediante análisis cualitativo y cuantitativo macroscópicos y microscópicos (recuento de ovocitos por área y medición de la línea germinal masculina).

Para el análisis cualitativo microscópico del ciclo reproductivo se procesaron muestras provenientes de Punta Coloso (23° 44´ S; 70° 20´ W) y Los Vilos (31° 52´S; 71° 33´W y 31° 54´S; 71° 30´W), mediante técnica histológica de rutina. Se clasificó cada individuo en uno de los cinco estados de desarrollo gonadal: D1, madurez inicial; D2, madurez avanzada; D3, madurez total; R1, evacuación inicial; R2, evacuación total y graficándose en histogramas de frecuencias (%) por mes de muestreo. Para la determinación cuantitativa macroscópica del ciclo reproductivo se calculó el Índice Gonadosomático (IGS) con la fórmula : $(\text{peso de la gónada X } (\text{peso húmedo total})^{-1} \text{ X } 100)$. Para el análisis cuantitativo microscópico del ciclo reproductivo de los machos se estimó la variación en altura de las regiones de células temprana (LGT: espermatogonias, espermatocitos y espermátidas redondas indiferenciadas) y avanzadas (LGA: espermátidas elongadas en citodiferenciación). Se obtuvo el promedio mensual para las poblaciones de Punta Coloso y Los Vilos. Se realizaron análisis de varianza de una vía y pruebas ***a posteriori*** para determinar diferencias entre medias muetrales (prueba ***T´***). Se construyeron rangos de talla por mes para cada región germinal y los datos se trabajaron como tablas de contingencia R x C. Se determinó el estadístico G y los residuos estandarizados (Grant & Tyler, 1983) para seguir su crecimiento.

Para el análisis cuantitativo del ciclo reproductivo de las hembras se contaron, mediante videomicroscopía, los tipos celulares presentes en un área de 0,072 mm^2 (ovocitos previtelogénicos, ovocitos vitelogénicos adheridos y ovocitos vitelogénicos libres) y se calculó el promedio mensual. Se realizaron análisis de varianza de una vía y pruebas ***T´***. Luego se trabajaron los conteos como tablas R x C (Mes x Nº tipo celular) y se determinó el estadístico G y los residuos estandarizados para establecer la sucesión progresiva de los tipos celulares femeninos.

Los resultados indican que las poblaciones de ambas localidades presentan un ciclo reproductivo continuo asincrónico con dos períodos reproductivos (agosto-marzo y abril-julio). La población de Punta Coloso presenta su principal evacuación gonadal en noviembre y la de Los Vilos en julio.

El patrón de ciclo reproductivo cuantitativo se expresa, en ambas poblaciones, en los resultados del análisis cualitativo de estados gonadales y en el cálculo de IGS.

Tanto la línea germinal masculina como la femenina presentan diferencias temporales significativas al análisis de varianza. La prueba ***T´*** determinó cuáles promedios mensuales aportaban en mayor medida a la varianza, ayudando a establecer los períodos de máxima madurez y de evacuación gonadal.

El cálculo del estadístico G fue significativo para ambas poblaciones, indicando la presencia de variaciones en el desarrollo de la línea germinal masculina y femenina a través del tiempo. Los residuos estandarizados explicaron en detalle la dinámica de la línea germinal y permitieron establecer el carácter continuo del ciclo reproductivo mediante la observación de las sucesivas progresiones de los diferentes tipos celulares (♀♀ y ♂♂).

De esta forma se concluye que el método cuantitativo y el posterior análisis estadístico de los resultados constituye una herramienta objetiva en los estudios reproductivos. Esto se debe a que el uso de datos discretos (tamaño (µm) ó Nº de cél / área) permite caracterizar la cinética de la gametogénesis, la cual está expresada en las diferencias encontradas mediante el análisis cualitativo del ciclo reproductivo, resultados que permiten aceptar la hipótesis de trabajo y validar el método.

Se sugiere la incorporación sistemática del análisis histológico cuantitativo y el tratamiento estadístico de los resultados, con el fin de rescatar la mayor parte de la información contenida en ellos y facilitar su interpretación y comparación.

INTRODUCCIÓN

ASPECTOS REPRODUCTIVOS GENERALES

La sexualidad en un individuo se expresa en tres niveles: gonadal, corporal y conductual (Chan & O, 1981). La sexualidad a nivel gonadal se manifiesta en la organización diferencial de la gónada y en la cinética de los procesos gametogénicos y de regresión para cada especie en particular. En invertebrados marinos, la sexualidad a este nivel ha sido estudiada desde distintos puntos de vista. Algunos ejemplos lo constituyen la ocurrencia de los distintos patrones de ciclo reproductivo, la cinética de los procesos de la gametogénesis y la citomorfología exclusiva de los gametos de ambos sexos. El ciclo reproductivo consta de varias etapas sucesivas, donde inicialmente se produce una acumulación de los componentes nutritivos posteriormente asimilados en los procesos gametogénicos seguido de una constante división y proliferación celular a nivel de gonias que lleva a la producción de gametos altamente diferenciados. Posteriormente se lleva a cabo la acumulación de gametos maduros, un período de evacuación y finalmente la remoción de los gametos residuales (Giese & Pearse, 1974). En los gastrópodos la gametogénesis no se desarrolla de igual forma en ambos sexos; sin embargo, los estados iniciales de la ovogénesis son muy similares a las primeras fases de la espermatogénesis, donde las células germinales primordiales originan a las ovogonias primarias (Raven, 1961). En el caso de las hembras, la ovogénesis con frecuencia es dividida en tres fases: la premeiótica, previtelogénica y vitelogénica. En la fase premeiótica ocurre la diferenciación de los ovocitos en que los cromosomas sufren una serie de cambios que representan la profase de la primera división meiótica (leptoteno, cigoteno, paquiteno y diploteno). Al final de esta

fase la meiosis es temporalmente suspendida y el ovocito inicia su crecimiento y diferenciación (Raven, 1961), etapa que se denomina dictioteno (Arrau ***et al***, 1981). Este hecho implica un gasto energético considerable debido a la acumulación de sustancias nutritivas. En el caso de los machos, la espermatogénesis ha sido estudiada desde el punto de vista ultraestructural debido al pequeño tamaño de los tipos celulares (Healy, 1989; Niu & Fuji, 1989). Esta consiste en una fase de proliferación celular inicial, una fase de maduración meiótica y una fase de citodiferenciación o espermiohistogénesis.

En el nivel corporal la sexualidad se manifiesta en la expresión fenotípica del sexo con la formación de órganos y sistemas reproductivos (Fretter, 1946; Purchon, 1968; Roosen-Runge, 1977; Webber, 1977; Giese & Kanatani, 1987; Wourms, 1987; Brown, ***et al***, 1997; Collado, 1998).

A nivel conductual la sexualidad se expresa en el comportamiento de los individuos maduros de la población. El éxito de la evacuación de los gametos en las especies de fertilización externa, depende en gran medida del reconocimiento de ambos sexos determinado probablemente por feromonas y/o por la estimulación mutua de los animales (Fretter, 1984). El apareamiento no es una conducta limitada a la condición de individuos copuladores, ya que se ha observado agregación de animales en la especie ***Nacella (Patinigera) concinna*** (8 individuos como máximo) durante el período de evacuación de gametos (Picken & Allan, 1983) y además se han descrito agregaciones de hasta 42 individuos en ***Nacella delesserti***, pero no hay seguridad de su función reproductiva (Blankley & Branch, 1985).

De los tres órdenes de Prosobranquios, los Arqueogastrópodos presentan una sexualidad relativamente simple. Este grupo principalmente comprende especies dioicas que no presentan cópula ni características sexuales secundarias y que emiten los gametos libres al exterior. Sin

embargo, también hay especies de fertilización externa que disponen sus óvulos embebidos en cintas mucosas, donde ocurre el desarrollo hasta los estados de larva trocófora y velígera. Los Mesogastrópodos corresponden al grupo más extenso, presentando una biología reproductiva diversa. Aunque la mayoría de las especies son dioicas, también se encuentran especies hermafroditas consecutivas protándricas (reversión del sexo masculino a femenino) y partenogenéticas. La cópula, conducta reproductiva que facilita la transferencia de gametos, la fertilización interna y la oviposición en masas gelatinosas o en cápsulas producidas en el oviducto paleal, constituyen la generalidad en los Mesogastrópodos y los Neogastrópodos (Webber, 1977).

En los invertebrados marinos la sincronización o "timing" del ciclo reproductivo en animales adultos, se expresa en un conjunto de patrones generalmente cíclicos, ocurriendo en forma rítmica o esporádica (estacional) o continuamente a través del año. Cuando responde a un ritmo, el período reproductivo es alternativamente diario, semimensual, mensual, semianual (ocurre más de un período en el año), anual (involucra un período activo de desarrollo de la gametogénesis, la evacuación de gametos y otro de reposo gonadal o inactividad) o bienal (Giese, 1959).

Un ciclo reproductivo continuo se caracteriza por períodos reproductivos que se repiten sin mediar un período de reposo gonadal (Giese & Pearse,1974). En los Arqueogastrópodos hay evidencias de especies que desarrollan gametos maduros durante todo el año (Ward, 1966; Newman, 1967; Young & De Martini, 1970; Underwood, 1972; Hayashy, 1980; Joll, 1980), mientras que otras especies presentan ciclos anuales con patrones reproductivos estacionales (Orton ***et al.***, 1956; Newman, ***op. cit.***; Hayashy, ***op. cit.***; Niu & Fuji, 1989).

Los procesos reproductivos de los invertebrados marinos están controlados por factores de tipo endógeno y exógeno. El almacenamiento de nutrientes, el control hormonal y los cambios

bioquímicos a nivel gonadal son factores endógenos que determinan las características de los ciclos reproductivos (Giese, 1959). Como un antecedente se ha descrito que durante el crecimiento de la gónada (inicio de la gametogénesis) del poliplacóforo ***Katharina tunicata***, el contenido de carbohidratos es transformado a proteínas en los testículos y a proteínas y lípidos en los ovarios (Giese & Pearse, 1974). En la misma especie, se ha señalado que los nutrientes utilizados en la producción de gametos provienen de reservas de nutrientes de la gónada, acumuladas a través de la ingesta de alimento (Nimitz & Giese, 1964). Por otra parte, también se ha considerado como órgano de reserva nutritiva a la glándula digestiva, en la especie ***Katharina tunicata*** (Lawrence ***et al.***, 1965) al igual que en los gastrópodos ***Haliotis tuberculata*** (Girard, 1972), ***H. rufescens*** y ***H. cracheroidii*** (Boolotian ***et al.***, 1962). La glándula digestiva presenta un ciclo anual inverso al de la gónada, hecho que sugiere la ocurrencia de un traslado de material desde el sitio de almacenamiento hacia la gónada, para su posterior utilización en el crecimiento de los ovocitos.

En un contexto evolutivo, los organismos seleccionan mecanismos para lograr las mejores posibilidades de sobrevivencia para asegurar la interacción gamética y por ende la producción de larvas en condiciones ambientales favorables. Estas condiciones ejercen presión selectiva en el "timing" y con frecuencia coinciden con el inicio de la gametogénesis, conformando el conjunto de factores exógenos en la sincronización (Giese & Pearse, ***op cit.***).

Los ciclos ambientales determinan ritmos reproductivos por medio de señales que se traducen a mecanismos fisiológicos, tales como cambios metabólicos y alteraciones en la regulación de los procesos gametogénicos. Con respecto a ellos, la mayor parte es regulado por hormonas aunque aún no se ha encontrado un control endógeno (hormonal) de la meiosis (Schroeder, 1987).

Los factores exógenos (temperatura, fotoperíodo, disponibilidad de alimento, batimetría, salinidad), han sido considerados como los modeladores, en gran proporción, de las características de los ciclos reproductivos. En invertebrados marinos, Orton (1920) sostiene que la actividad reproductiva diferencial entre poblaciones de una misma especie, de distinta distribución geográfica, se debe a la acción de la temperatura, a pesar de que existen estudios que no apoyan la anterior premisa (Webber & Giese, 1969; Himmelman, 1978). En los gastrópodos ***Acmaea limatula*** (Segal, 1956) y ***Acmaea scabra*** (Sutherland, 1970), la actividad gametogénica de las poblaciones más supralitorales, que experimentan una temperatura más elevada y menor disponibilidad de alimento, es mucho más limitada (producción de ovocitos) que en los individuos más infralitorales. En poblaciones del bivalvo ***Geukensia demissa*** situadas a distintos niveles del intermareal, se registra una variación temporal del comportamiento reproductivo, similar al obtenido para poblaciones de la misma especie provenientes de latitudes diferentes (Borrero, 1987). Asimismo, se han descrito poblaciones de ***Placopecten magellanicus*** que separadas latitudinalmente muestran diferencias en la actividad reproductiva que además se expresan batimétricamente, con igual o mayor magnitud, en un plano microgeográfico (MacDonald & Thompson, 1988). El Arqueogastrópodo ***Haliotis ruber*** presentó diferentes estaciones reproductivas en distintos lugares de estudio, concluyéndose que las variables ambientales locales influyen en la regulación de la periodicidad reproductiva de esta especie (Shepherd & Laws, 1974).

Los primeros trabajos acerca del control que ejerce la temperatura del agua sobre la gametogénesis se obtuvieron en los bivalvos: ***Crassostrea virginica*** (Loosanoff, 1945; Loosanoff & Davis, 1952); ***Venus mercenaria*** (Loosanoff & Davis, 1950); ***Tapes philippinarum*** (Mann, 1979); ***Aequipecten irradians*** (Sastry, 1963; 1966; 1971); ***Mytilus edulis*** (Bayne ***et al.***, 1978, 1983);

Mytilus galloprovincialis (Lubet ***et al.***, 1981). En los Arqueogastrópodos, la actividad gametogénica se ha relacionado con cambios estacionales de la temperatura del agua; ***Haliotis australis*** (Poore, 1970); ***Haliotis tuberculata*** (Girard, 1972) y ***Collisella heroldi*** (Niu & Fuji, 1989).

Por otra parte, la evacuación de gametos en los haliótidos puede ser el resultado de la combinación de tres factores: el grado de madurez de la gónada, la intensidad del estímulo y las condiciones ambientales en las que se encuentran los individuos cuando ocurren los estímulos (Hayashy, 1980). Por consiguiente, la variación térmica del agua, la disponibilidad de alimento y otros factores desconocidos estarían incidiendo en la variación de la tasa de maduración y en el "timing" de la evacuación de gametos. También se sostiene que el conjunto de factores térmicos, mecánicos, genéticos y hormonales, estimulan la evacuación (normalmente nocturna) en los individuos maduros (Fretter & Graham ***fide*** Giese & Kanatani, 1987). En este proceso los animales maduros presentan una mayor sensibilidad a la ocurrencia de señales, lo que se traduce en contracciones de la musculatura gonadal (si la hay) o de la pared del cuerpo.

La disponibilidad de alimento, como ya se ha mencionado, es un factor exógeno que modula el ciclo reproductivo de invertebrados marinos en forma independiente o junto con otros factores (Giese, 1959). En ***Haliotis rufescens*** se obtuvo una correlación positiva entre la abundancia de algas de mayor preferencia alimentaria y el período de mayor producción de gametos (Giorgi & De Martini, 1977), lo que también sucede en ***H. laevigata*** y ***H. cyclobates*** (Shepherd & Laws, 1974). Se señala además, en estas dos especies, ***H. laevigata*** y ***H. cyclobates***, que el ciclo reproductivo va asociado a un período de condiciones ambientales favorables, reflejado en el pronunciado período estacional de evacuación que exhiben estas especies. También se ha señalado que la conducta alimentaria y la tasa de crecimiento de ***Haliotis iris*** y ***Haliotis australis*** se ve afectada por los

requerimientos nutritivos para la producción gametogénica. Estos haliótidos se alimentan principalmente en el período invernal, momento en el que sus gónadas se encuentran en franca recuperación post-evacuación, lo que coincide con una menor tasa de crecimiento de la concha (Shepherd, 1973).

Se ha determinado que la supresión experimental del alimento en el poliplacóforo ***Katharina tunicata,*** sólo provoca una disminución de la cantidad de gametos maduros producidos, relacionando nuevamente a la alimentación (factor exógeno) con la capacidad de modular un ciclo reproductivo (Himmelman, 1978). En los ostiones se determinó anteriormente que la transferencia de nutrientes hacia la gónada y por ende su crecimiento, estaría regulado por el factor alimento junto a la temperatura del agua (Sastry, 1971).

También se ha planteado la posibilidad de que la multiplicación celular de la línea germinal, en el poliqueto ***Harmothoe imbricata,*** se inicie como respuesta a la liberación simultánea de ovocitos maduros (evacuación), es decir, como un mecanismo de retroalimentación en donde la evacuación gonadal actuaría como otro factor estimulante (Olive, 1971), al igual que en ***Eulalia viridis*** (Olive, 1980). Aparentemente, este hecho se expresaría en ***Haliotis ruber***, en el cual se detecta en primavera un crecimiento de ovocitos de pequeño tamaño junto con la evacuación de ovocitos maduros (Shepherd & Laws, 1974).

Otro factor de tipo exógeno que actúa en el desarrollo del ciclo reproductivo, lo constituye la estimulación directa del fitoplancton. Es así como en mitílidos y equinodermos se han producido emisiones de gametos como respuesta a la estimulación fitoplanctónica experimental, la cual no es especie específica y depende en gran parte de la concentración de células fitoplanctónicas en suspensión y del exudado de sustancias presentes en el medio utilizado (Himmelman, 1975; Starr ***et***

al.,1990). Además se determinó experimentalmente que la agregación de gametos masculinos al agua de mar utilizada, sumado a la concentración fitoplanctónica ya existente, provocarían una mayor respuesta en la evacuación masiva de los machos (los aún sin evacuar) y de las hembras.

ESTUDIOS DE CICLO REPRODUCTIVO Y CINÉTICA DE LA GAMETOGÉNESIS

Para obtener un acertado conocimiento de los aspectos reproductivos en invertebrados marinos, Giese (1959) estima necesario estudiar el esfuerzo o cantidad de energía invertida (usualmente expresado en un índice gonadosomático); conocer los cambios morfológicos en las células de la línea germinal y somáticas (método histológico) en directa interacción durante este proceso; manejar el tiempo de desarrollo de los procesos de la gametogénesis a nivel individual y poblacional, el tiempo que demora y las condiciones en que se lleva a cabo la evacuación natural de gametos; y por último, confirmar el éxito reproductivo mediante el análisis exhaustivo de la composición zooplanctónica de larvas, como también del reclutamiento de juveniles.

Frente a la insoslayable dificultad que involucra un estudio de tal envergadura es inevitable su investigación parcial, utilizando métodos adecuados que permitan la obtención de datos que confirmen y favorezcan una adecuada interpretación de los resultados.

En los moluscos la caracterización de un ciclo reproductivo se ha logrado aplicando varios métodos. El método histológico cualitativo es una técnica ampliamente desarrollada en bivalvos, en que se divide el ciclo reproductivo en un número de estados de desarrollo luego de analizar secciones histológicas de la gónada (Lubet ***et al.***, 1981; Grant & Tyler, 1983a; Brousseau, 1983;

1987; Rowell ***et al.***, 1990). En los gastrópodos, ya en 1920, Orton utilizó criterios cualitativos arbitrarios derivados del examen de muestras histológicas en varias especies de invertebrados marinos. En ***Patella vulgata*** se aplicó la misma técnica, donde los estados de desarrollo utilizados para machos y hembras son similares (Orton ***et al.***, 1956). También se aplicaron criterios cualitativos de la condición de las gónadas en ***Patella coerulea*** (Bacci, 1947a); ***Gibbula cineraria*** y ***Gibbula umbilicalis*** (Underwood, 1972); ***Haliotis midae*** (Newman, 1967); ***H. tuberculata*** (Hayashy, 1980); ***Turbo intercostalis*** y ***Turbo torquatus*** (Joll, 1980). Existen otros trabajos en haliótidos como los de ***H. tuberculata*** (Girard, 1972); ***H. rufescens*** (Young & De Martini, 1970) y también en la lapa ***Collisella heroldi*** (Niu & Fuji, 1989) en que se utilizó el mismo criterio. Esta determinación arbitraria de estados de desarrollo gonadal varía de un autor a otro para la misma especie en cuanto al número de estados empleados (Sastry, 1979). Se ha recomendado que el método histológico, de uso indistinto tanto para machos como para hembras, debería ser complementado con técnicas cuantitativas para facilitar aun más la interpretación de los resultados obtenidos (Lucas, 1982; Tyler ***et al.***, 1982; Grant & Tyler, 1983 b). En este sentido la determinación de ciclos reproductivos se ha realizado en gran medida, a través del cálculo de índices o proporciones basados en determinaciones somatométricas o volumétricas de un gran número de individuos debido a su fácil aplicación. Uno de estos es el índice gonadosomático (IGS), el cual consiste en calcular la relación del peso húmedo de la gónada con respecto al peso húmedo del cuerpo del animal, expresada en porcentajes (Giese & Pearse, 1974). Este método ha sido ampliamente utilizado en los bivalvos (Sastry, 1970; Giguere ***et al***, 1994; Lozada & Bustos, 1984; Jaramillo & Navarro, 1995). La utilización del índice de condición en la almeja ***Tapes rhomboides***, cuya gónada está inserta en el complejo masa visceral, se determina por el peso o volumen de las partes blandas del cuerpo en relación a la

concha del animal (Morvan & Ansell, 1988). También se han empleado índices gonadosomáticos para obtener el período reproductivo de ***Haliotis cracheroidii***, removiendo la porción correspondiente a gónada del complejo gónada glándula digestiva, calculando luego su peso y la relación con el peso total de sus partes blandas (Webber & Giese, 1969; Webber, 1970). El mismo método se aplicó en ***Collisella heroldi*** (Niu & Fuji, 1989). En haliótidos se utilizó el índice gonádico, calculado en cortes transversales del complejo gónada glándula digestiva, considerando el área de la porción gonadal referida al área total de la sección (Poore, 1970; Young & DeMartini, 1970; Shepherd & Laws, 1974). En haliótidos se relaciona el área de la gónada con la longitud de la concha (Boolotian ***et al.***, 1962), al igual que en ***Patella vulgata*** (Blackmore, 1972). En haliótidos se determinó la superficie de la gónada y la superficie total de la sección usando un planímetro. Estos datos más la longitud total del complejo gónada glándula digestiva, permitieron obtener el volumen de la gónada; método que se denominó índice volumétrico de madurez gonadal (Vg) (Girard, 1972). En ***Haliotis rufescens*** se calculó el volumen de la gónada, a través de una ecuación matemática referida al peso de las partes blandas (índice de volumen de la gónada) (Tutschulte & Connell, 1981).

En los invertebrados marinos se han desarrollado otras técnicas cuantitativas. Tyler ***et al*** (1982) y Grant & Tyler (1983b) desarrollaron en equinodermos la medición de ovocitos que presentaban núcleos visibles, creando frecuencias por rangos de talla, con el fin de explicar la dinámica de la línea germinal. Sometieron los resultados al análisis estadístico de tablas de contingencia RxC (R= N° de individuos; C= N° clase de tallas) y a la designación de residuos estandarizados, dando cuenta del crecimiento de los tipos celulares femeninos. Esta técnica fue utilizada en especies de profundidad como ***Dytaster grandis*** (estrella de mar) en el norte del

Océano Atlántico (Tyler, ***et al.*** 1990) y en la almeja ***Calyptogena kilmeri*** (Lisin ***et al.***, 1997) donde se realizaron análisis de varianzas entre localidades y entre los meses de muestreo, obteniéndose posteriormente comparaciones de medias mensuales con pruebas ***a posteriori***. Otro estudio, en la ostra ***Crassostrea virginica,*** midió en individuos maduros, cortes transversales de la capa gonadal que rodea al cuerpo (Loosanoff, 1965). Por otra parte, en el bivalvo ***Mercenaria mercenaria***, se sometió a recuento todos los ovocitos existentes en secciones de tejido gonadal escogidas al azar, en un área microscópica conocida, (Keck ***et al.***, 1975).

En ***Haliotis cracheroidii*** se complementó el análisis cualitativo histológico al incorporar el análisis cuantitativo de la medición de ovocitos distribuídos por rangos de talla y sus respectivas frecuencias porcentuales. En machos, el análisis cuantitativo fue desarrollado según valores proporcionales (%) de la porción madura de la gónada, que estaba ocupando la sección transversal total del complejo cónico gónada glándula digestiva (Webber & Giese, 1969). En forma análoga y también en haliótidos, se construyeron dos clases de tallas, se registró el número de "ovocitos grandes" y "ovocitos pequeños" y los resultados se presentaron como porcentaje de ovocitos vitelogénicos ("ovocitos grandes") (Poore, 1970; Giorgi & DeMartini, 1977). Giorgi & DeMartini ***op cit***, además refirieron el número total de ovocitos vitelogénicos en cada ovario, como medida de la producción de gametos.

Una forma discreta y menos subjetiva de interpretar los resultados obtenidos para obtener el estado reproductivo de una especie, se ha encontrado en la estereología, definida como un conjunto de expresiones matemáticas que relacionan los parámetros tridimensionales para explicar una determinada estructura, por medio de la obtención de medidas bidimensionales de la misma al dividirla en secciones (Briarty, 1975; Weibel, 1979). Técnicamente consiste en someter a recuento

"puntos de prueba" en las secciones de material escogidas al azar, usando una grilla construída en respuesta a relaciones matemáticas. Se obtiene un ciclo reproductivo al contar las "secciones de material", que corresponden a los tipos celulares del tejido gonádico, en muestras periódicas (Bayne, 1978). Existe un número de trabajos que ocupa esta técnica (Christiansen ***et al***, 1972, 1973; Briarty, 1975; Kautsky, 1982; Newel ***et al.***, 1982; Lowe ***et al.***, 1994).

Otra técnica cuantitativa para estudiar el ciclo reproductivo se aplicó en el bivalvo ***Calyptogena kilmeri***, en que la dinámica de la línea germinal masculina se determinó mediante una regla micrométrica situada en el ocular de un microscopio. Se registró en cada observación de las secciones gonadales, los tipos celulares masculinos que impactaban un total de 10 puntos de la regla (renglones) en 15 transectas (Lisin ***et al.***, 1997).

También en bivalvos se ha tratado de explicar, mediante la utilización de índices de diversidad en poblaciones celulares de tejido gonadal, la sucesión de los tipos celulares como estrategia reproductiva (Schuldt, 1990).

La "fotoplanimetría" es otra metodología para determinar el ciclo reproductivo y se ha utilizado en ***Geukensia demissa***, ***Mercenaria mercenaria*** y ***Crassostrea virginica***. Ésta analiza imágenes, captadas por una cámara de televisión situadas sobre campos microscópicos de área conocida, posteriormente impresas para calcular el área correspondiente a la gónada, del total de la sección compuesta por masa visceral (Heffernan & Walker, 1989 a, 1989 b; Heffernan ***et al.***, 1989 c, 1989 d).

Die ***et al.*** (1995) plantearon que la utilización de secciones histológicas en la determinación de patrones reproductivos espaciales o temporales, el estado de desarrollo de la gónada se encuentra usualmente basado en la evaluación subjetiva de un observador que estima

cualitativamente el tipo celular predominante en el corte histológico. Esta subjetividad, es un problema cuando muchos observadores describen un ciclo reproductivo o cuando se comparan dos estudios de la misma especie; estos autores destacan que la ventaja de un análisis de imágenes computarizadas, facilitaría el análisis cuantitativo de éstas mediante una gran cantidad de mediciones precisas. los autores trabajaron con mediciones de luminosidad en imágenes microscópicas captadas por una cámara y remitidas a la pantalla de un computador, posterior a la determinación de estados cualitativos de desarrollo gonadal. Luego se crearon rangos de luminosidad, se midieron ovocitos y el área de tejido gonadal, dentro de una sección histológica. Los datos obtenidos fueron relacionados mediante un análisis de funciones discriminantes revelándose el "gradiente de desarrollo gonadal".

Todas las metodologías utilizadas poseen características a favor y en contra de los resultados obtenidos. Si bien los índices gonádicos otorgan la ventaja de examinar un gran número de animales, entregan poca información acerca de la dinámica de los eventos gametogénicos. Por otro lado, la estereología se ve afectada debido al tamaño de los elementos sometidos a recuento, esto es, la superestimación de elementos de gran tamaño y la subestimación de las pequeñas estructuras (Di Bacco ***et al.***, 1995). En este contexto, Brousseau (1983) recomienda la complementación de otras metodologías sin descartar la histológica cualitativa. Según Die ***et al.*** (1995) el análisis de imágenes necesita del análisis histológico y requiere un mayor afinamiento en la técnica y en el tratamiento de los datos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El índice gonadosomático es el método más utilizado en la determinación del ciclo reproductivo en los fisurélidos chilenos. Esto se sustenta en la existencia de una gónada perfectamente aislable del resto del cuerpo, lo que facilita el registro del peso. De este modo, se han calculado índices gonadosomáticos en ***Fissurella maxima*** (Bretos ***et al.***, 1983; Osorio ***et al.***, 1985[1]; Osorio, 1986[2]); ***F. nigra*** (Bretos ***et al.***, 1988a); ***F. pulchra*** (Bretos & Chihuailaf, 1990); ***F. picta*** (Bretos ***et al.***, 1988b); ***F. limbata*** (Zúñiga, 1991); ***F. latimarginata***, ***F. cumingi*** (Brown ***et al.***, 1997); ***F. crassa*** (Huaquín ***et al.***, 1998); ***F. latimarginata*** (Segura, 1998).

En Chile existen varios trabajos que utilizan el método histológico para determinar el ciclo reproductivo. Es el caso de la especie ***F. maxima*** en la población de Iquique (Herrera, 1983[3]; Pavez & Arias, 1992[4]) y en Los Vilos (Osorio ***et al.***, 1985[1] ; Osorio, 1986[2]); ***F. limbata,*** en poblaciones de Fray Jorge (IV región) (Zúñiga ***op. cit.***); ***F. latimarginata*** y ***F. cumingi*** en poblaciones de Los Vilos y Punta Coloso (Brown ***et al.***, 1997; Collado, 1998); ***F. latimarginata*** en Punta Coloso (Segura, 1998); ***F. latimarginata***, ***F. cumingi*** y ***F. maxima*** en Quintay (Bonati ***et al***, 1999[5]).

---

1 Osorio, C. ; S. Avilés & P. Figueroa . 1985. "Efecto del Niño sobre la reproducción de ***Fissurella maxima*** (Mollusca: Gastropoda) en Los Vilos (1983 – 1984). V Jornadas de Ciencias del Mar, Coquimbo, Chile. Página 42. Resumen.

2 Osorio, C. 1986. Estudios biológicos en ***Fissurella maxima*** Sowerby 1835 en Chile. X Congreso Latinoamericano de Zoología, Viña del Mar, Chile. Página 498. Resumen.

3 Herrera, G. 1983. Análisis estacional del ciclo sexual en ovario de ***Fissurella maxima*** (Sowerby, 1835) (Archaeogastropoda: Fisurellidae) en el Norte de Chile. Archivos de Biología y Medicina Experimentales. Vol. 16 (2). Página 160. Resumen.

4 Pávez, M. & T. Arias. 1992. Ciclo estacional de ***Fissurella maxima*** (Sowerby, 1835) (Archaeogastropoda: Fissurellidae) en la zona de Iquique- Chile. Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo. V Reunión Anual, Pichidangui, Chile. Página 13. Resumen.

5 Bonati, P.; Vega, G.; Figueroa, M. & H. Perez. 1999. Análisis del ciclo reproductivo de ***Fissurella*** spp. en Quintay (V región), y su potencial aplicación en acuicultura. XIX Congreso de Ciencias del Mar, Antofagasta, Chile. Página 74. Resumen.

La determinación cuantitativa microscópica de la actividad reproductiva no ha sido empleada en forma regular en los fisurélidos chilenos. No obstante, en ***F. limbata*** se midieron ovocitos creando posteriormente rangos de talla (Zúñiga, 1991), semejante al método utilizado en equinodermos y moluscos (Tyler ***et al***, 1982 ; Grant & Tyler, 1983b). En resumen el análisis microscópico cuantitativo se ha desarrollado principalmente en hembras, teniendo como referente el gran tamaño de sus ovocitos y por ende la mayor facilidad de detección y posterior análisis. Ya se ha planteado la diferencia que existe en los procesos de la gametogénesis femenina y masculina (Raven, 1961). En relación con esto en ***F. maxima*** se han determinado diferencias en el tiempo que demora el desarrollo de la espermatogénesis y la ovogénesis; sin embargo, estas se basan en el índice gonadosomático sin presentar evidencias histológicas (Osorio, 1986[1]).

En algunos estudios de ciclo reproductivo existe una correspondencia entre los resultados del IGS y el análisis histológico (estados de desarrollo gonadal). Es el caso de ***F. maxima*** (Osorio, ***op. cit.***); ***F. limbata*** (Zúñiga, 1991); ***F. latimarginata*** y ***F. cumingi*** (Brown ***et al.,*** 1997); ***F. latimarginata***. (Segura, 1998); ***F. latimarginata***, ***F. cumingi*** y ***F. maxima*** (Bonati ***et al***, 1999[2]).

En otro contexto, el origen del problema planteado en este estudio tiene relación con el consumo de "lapas" del género ***Fissurella***, el cual es de antigua data y principalmente basado en una economía de subsistencia. En la actualidad hay evidencias de que este tipo de economía perdura y que además coexiste con la extracción artesanal masiva dirigida a mercados externos. El aumento en las capturas en la década de los ochenta (Oliva & Castilla, 1990), se produjo en gran

---

1 Osorio, C. 1986. Estudios biológicos en ***Fissurella maxima*** Sowerby 1835 en Chile. X Congreso Latinoamericano de Zoología, Viña del Mar, Chile. Página 498. Resumen.

2 Bonati, P.; Vega, G.; Figueroa, M. & H. Perez. 1999. Análisis del ciclo reproductivo de ***Fissurella*** spp. en Quintay (V región), y su potencial aplicación en acuicultura. XIX Congreso de Ciencias del Mar, Antofagasta, Chile. Página 74. Resumen.

medida por la declinación en las capturas del molusco murícido ***Concholepas concholepas*** ("loco"), especie objetivo que fue sometida a una sobreexplotación sostenida provocándose la posterior disminución de su "stock" (Bustamante & Castilla, 1987); y por otra parte debido a la apertura, en 1984, de un mercado externo para el recurso lapa (Oliva & Castilla, 1990).

Según McLean (1984), 9 de las 13 especies descritas se encuentran en la Provincia Peruana Temperada Cálida, correspondiendo a ***F. peruviana***, ***F. maxima***, ***F. latimarginata***, ***F. cumingi***, ***F. costata***, F. ***limbata***, ***F. crassa***. ***F. bridgesii*** y ***F. pulchra***. Aunque se diferencian en la distribución norte – sur, todas se encuentran entre Iquique y Concepción (20°S – 37°S). Por otro lado, cuatro especies de la Provincia Magallánica Temperada Fría incluyen el sur de Chile y de Argentina: ***F. picta***, ***F. nigra***, ***F. radiosa*** y ***F. oriens***, cuya distribución también difiere situándose en los 43°S y 54°S. La distribución geográfica de los fisurélidos chilenos (Figura 1), deja de manifiesto tres puntos de quiebre: Río Aconcagua (32°55´S; 71°37´W); Río Bío-Bío (36°49´S; 73°08´W) y la isla de Chiloé (43°20´S; 74°26´W). Pero en general, la pesquería de lapas se encuentra más desarrollada en el norte y centro del país como respuesta a su distribución, así como por la presencia de especies de mayor calidad (proporción pie/concha) y poblaciones de mayor envergadura, que están ocupando una gran variedad de hábitats (Oliva & Garrido, 1994).

Las especies mayormente capturadas por los pescadores artesanales corresponden a: ***F. maxima*** Sowerby, 1835; ***F. latimarginata*** Sowerby, 1835; ***F. cumingi*** Reeve, 1849***; F. costata*** Lesson, 1831; ***F. bridgesii*** Reeve, 1849 y ***F. pulchra*** Sowerby, 1835 (Oliva & Garrido, 1994).

Existen estudios de edad y crecimiento en ***F. latimarginata*** y ***F. maxima*** (Acuña, 1977; Bretos, 1982); sobre aspectos morfológicos y morfométricos en ***F. bridgesii*** (Bretos, 1979); relacionados con alimentación y aspectos reproductivos en ***F. maxima*** (Bretos ***et al.***, 1983; Osorio,

1986[1]; Osorio ***et al.***, 1988); sobre ritmos de actividad en ***F. crassa*** y ***F. latimarginata*** (Pino ***et al.***, 1994); respecto al cultivo en ***F. latimarginata*** (Arroyo ***et al.***, 1991; Pereira & Quezada., 1996[2]) y ***F. cumingi*** (Vega ***et al.***, 1996[3]); además de la ecología básica de ***F. crassa*** y ***F. limbata*** (Oliva & Castilla, 1986) y una clave para reconocer a nivel de especie, los fisurélidos de interés comercial en las costas del país (Oliva & Castilla, 1992).

Aunque en los últimos años los pescadores artesanales han ido cambiando radicalmente la forma de extracción de los recursos bentónicos, desde un régimen de libre acceso a uno de acceso restringido, la composición específica de la pesquería ha sufrido cambios espaciales y temporales a nivel local. Esto se debe al agotamiento de los "stocks" de las especies preferidas en cada caleta sumado a la menor proporción de especies extraídas (Oliva & Garrido,1994). En relación con lo anterior, se ha descrito que en las capturas se ha producido la sustitución de ***F. maxima,*** especie con mayor preferencia de extracción de caleta El Quisco (V Región), por ***F. latimarginata*** (Oliva & Castilla, 1990). Por último, cabe destacar la existencia de una gradual declinación de la talla de los individuos capturados (Oliva &Castilla, 1990, Oliva & Garrido, 1994). El interés por realizar esta investigación surge frente a la inobjetable alteración de la pesquería del recurso lapa y de su relación directa con el aspecto reproductivo. El hecho de caracterizar los períodos reproductivos de las distintas poblaciones de la pesquería multiespecífica de los fisurélidos chilenos, proporciona un mayor apoyo en el momento de proponer medidas de resguardo (vedas

---

[1] Osorio, C. 1986. Estudios biológicos en ***Fissurella maxima*** Sowerby 1835 en Chile. X Congreso Latinoamericano de Zoología, Viña del Mar, Chile. Página 498. Resumen

[2] Pereira, L & S. Quezada, 1996. Preliminary culture of the limpet ***Fissurella latimarginata***. Journal of Medical and Applied Malacology. Volumen 8 (1), pp 152. Resumen.

[3] Vega, G; C. Osorio; J. Remonsellez; A. Von Mareès. 1996. Avances en el cultivo de ***Fissurella cumingi*** (MOLLUSCA:ARCHAEOGASTROPODA). IX Congreso Latinoamericano de Acuicultura, Coquimbo, Chile. 2° Simposio Avances y Perspectivas de la Acuicultura en Chile, pp 215 - 219. A. Silva & G. Merino (eds.). Universidad Católica del Norte. Asociación Latinoamericana de Acuicultura, Coquimbo, Chile, 1996.

regulatorias reproductivas) tendientes a mantener un desarrollo sustentable del recurso en el tiempo, al igual que su rentabilidad.

Por este motivo, en este estudio se determinó la condición reproductiva y la cinética de la gametogénesis de la línea germinal en ambos sexos del Arqueogastrópodo ***Fissurella latimarginata***, siguiendo tres métodos: el método histológico cualitativo, en que se asignan estados de desarrollo a la madurez gonadal (similar para ambos sexos) según Brown ***et a***l. (1997); el método cuantitativo macroscópico del cálculo del índice gonadosomático (IGS), también aplicable en ambos sexos (Giese & Pearse, 1974; Bretos ***et al.***, 1983); y por último, el uso de métodos cuantitativos microscópicos diferenciales en machos y hembras, la variación en altura (µm) de la línea germinal masculina y el conteo de tipos celulares de la línea germinal femenina en un área gonadal determinada (Christiansen ***et al***, 1972; 1973) y clasificados según el criterio de Raven (1961).

HIPÓTESIS

En este contexto, este trabajo de investigación estuvo sometido a la siguiente hipótesis de trabajo:

" Si se encuentra que las poblaciones de ***F. latimarginata*** de Punta Coloso y de Los Vilos exhiben diferencias de tipo cualitativas en la duración y características de los estados de madurez gonadal, entonces es esperable hallar estas diferencias expresadas en la caracterización cuantitativa macro y microscópica de la cinética de la línea germinal."

OBJETIVOS

Para poner a prueba la hipótesis de trabajo se plantearon los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL

Establecer a través de un método cualitativo (estados de madurez gonadal) y cuantitativo (IGS, recuento de tipos celulares por área y medición de la línea germinal), la cinética de la gametogénesis en dos poblaciones de ***Fissurella latimarginata*** , para determinar de qué manera las variaciones en el comportamiento de los patrones de ciclo reproductivo, responden a las variaciones en la expresión de la sexualidad a nivel gonadal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

→ Establecer el ciclo reproductivo en poblaciones de ***Fissurella latimarginata*** provenientes de la II y IV Regiones, a través del análisis cualitativo microscópico de los estados de madurez gonadal.

→ Determinar, en términos cuantitativos macroscópicos, el comportamiento reproductivo de ***F. latimarginata,*** a través de la variación del Indice Gonadosomático (IGS) en las áreas de estudio.

→ Caracterizar los procesos que determinan la cinética de la gametogénesis, utilizando una metodología cuantitativa microscópica para las poblaciones de interés.

PRESENTACIÓN DE LA ESPECIE

La sistemática de los taxa superiores (desde phylum a orden) se indica de acuerdo a Trueman & Clarke (1985). La sistemática de la familia Fissurellidae Fleming, 1822, está señalada de acuerdo a McLean (1984), quien reconoce dos subfamilias: Emarginulinae, dividida a su vez en tribus; y Fissurellinae, miembros más jóvenes de la familia. Esta última, dividida en tres grupos : Grupo de ***F. peruviana (F. peruviana)***, grupo de ***F. maxima*** (***F. maxima***, ***F. latimarginata***, ***F. cumingi***, ***F. costata***, ***F. radiosa***, ***F. picta***, ***F. nigra*** y ***F. oriens***) y grupo de ***F. limbata*** (***F. limbata***, ***F. crassa***, ***F. bridgesii*** y ***F. pulchra***).

Phylum Mollusca

Subphylum Conchifera-Cyrtosoma

Clase Gastropoda

Orden Archaeogastropoda

Familia Fissurellidae Fleming, 1822

Subfamilia Fissurellinae Fleming, 1822

Género ***Fissurella*** Bruguière, 1789

Subgénero ***Fissurella*** Bruguière, 1789

Especie ***Fissurella latimarginata*** Sowerby, 1835

F. latimarginata presenta una concha de forma oval, aguzada anteriormente y de coloración morada oscura. El borde del manto, de color negro, culmina en su región distal en papilas de color amarillo intenso. El pie también es negro, por lo que se le conoce comúnmente como "lapa negra" (Oliva & Castilla, 1992).

MATERIALES Y MÉTODOS

LOCALIDADES DE ESTUDIO

Las poblaciones de ***Fissurella latimarginata*** utilizadas para la obtención de las muestras mensuales correspondieron a la caleta Punta Coloso (23°44´S; 70°20´W) (II Región) y a las caletas Las Conchas (31°52´S; 71°33´W) y San Pedro (31°54´S; 71°30´W) en la IV Región (Figura 1). Se tomaron muestras de la pesquería artesanal mediante buzos Hookah por un período de 12 meses a partir de agosto de 1995.

DETERMINACIÓN CUALITATIVA DEL CICLO REPRODUCTIVO

TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Dependiendo de las condiciones ambientales y consecuentemente de las posibilidades de captura, se procesaron al menos 30 ejemplares por mes y por localidad. Cada animal se midió con un pie de metro de 0,1 mm de precisión con el fin de seleccionar individuos con longitud de la concha sobre los 60 mm, para asegurar que hayan madurado sexualmente (Bretos, ***et al.***, 1983; Brown ***et al.***, 1997) (Figura 2). Los animales, dispuestos sobre una bandeja de plástico, fueron disecados cuidadosamente. Se les extrajo la concha, separándola del borde muscular del cuerpo con la ayuda de un cuchillo sin filo. Se registró el peso del animal sin concha (peso de las partes

blandas) en una balanza digital OHAUS (0,1 g de precisión). La parte dorso posterior del animal que contiene a la gónada (Bretos ***et al.***, 1983), se trató con especial cuidado para no añadir un sesgo en la determinación del peso de las partes blandas por pérdida del contenido gonadal, en caso de rasgar el epitelio de recubrimiento. Posteriormente se determinó el sexo a través de la observación de la coloración de la gónada, luego de su exposición durante el procedimiento de disección. Paralelamente, se humedecieron continuamente los tejidos con agua de mar para evitar su desecación. Luego se extirpó la gónada cortando las prolongaciones conectivas que la soportan desde el pie y parte de la masa visceral (glándula digestiva), tomándola con una pinza "diente de ratón" sin dañar el tejido y transportándola a papel absorbente. Se extrajo el exceso de líquidos y se registró su peso, para finalmente mantenerla en prefijación durante una hora en solución fijadora de ALFAC (85% de alcohol; 10% de formalina y 5% de ácido acético) (López ***et al.***, 1982). Posteriormente se seccionó una submuestra gonadal transversal de al menos 5mm de espesor que se mantuvo en fijador nuevo durante 24 horas. Enseguida los trozos gonadales se sometieron a deshidratación en una batería alcohólica (etanol) de gradación creciente; se aclararon en un líquido alcohólico intermediario (xilol), se embebieron con parafina líquida (Paraplast Plus, P.F. = 56°C.) mantenida en estufa de inclusión y finalmente se incluyeron en moldes plásticos. Los bloques de parafina sólida, con los trozos de gónada en su interior, fueron seccionados en un micrótomo rotatorio Leitz "Minot" obteniéndose cortes histológicos de 5-8 µm, de diferentes niveles gonadales, con un espaciamiento de 300 µm. Estos fueron estirados en una platina térmica a 40 °C y adheridos a portaobjetos albuminizados. Las preparaciones fueron desparafinadas, hidratadas en una batería decreciente de etanol hasta llegar al agua destilada y teñidas con el método tricrómico de ARTETA (Hematoxilina, Eritrosina/Orange-G, Azul de Anilina) (López ***et al.,*** 1982). Luego de la deshidratación

en una batería creciente de etanol y el consecuente aclarado en xilol, las preparaciones se sometieron a montaje definitivo con bálsamo de Canadá. La observación bajo un microscopio óptico Leitz Orthoplan de cada preparación histológica por muestreo mensual, permitió establecer una clasificación de acuerdo al grado de evolución morfológica de la línea germinal asociada a los septos gonadales, en uno de cinco estados histológicos de madurez del tejido gonadal según la modificación del trabajo de Lucas (1982) efectuada por Brown ***et al.*** (1997):

MD1: (Masculino. Desarrollo estado1). Madurez inicial. Se observan septos gonadales con línea germinal temprana amplia (LGT); integrada por espermatogonias basales, espermatocitos en varias capas en ordenación radial centrífuga hacia el antro gonadal y eventualmente espermátidas redondas de núcleo pequeño. También es posible detectar la presencia de escasas espermátidas elongadas en citodiferenciación, que comprenden la línea germinal avanzada (LGA) (Figura 3).

MD2: (Masculino. Desarrollo estado 2). Madurez avanzada. Como en MD1, se encuentran septos gonadales con LGT amplia. Hay un evidente aumento de la LGA, representada por las espermátidas elongadas avanzadas en citodiferenciación o espermiohistogénesis, organizadas en largas espigas radiales desde la región adantral, desde la LGT hasta el espacio interseptal o antral. Las colas de las espermátidas se orientan hacia el antro (Figura 5).

MD3: (Masculino. Desarrollo estado 3). Madurez total. Maduro. En los septos gonadales la LGA es predominante; la altura de las espigas de espermátidas elongadas es mayor que la banda radial de LGT que persiste integrada por espermatogonias, espermatocitos y espermátidas redondas. Aunque eventualmente la LGT puede estar restringida a una sola capa de

espermatogonias, la condición regular es que está integrada también por los otros tipos celulares en una banda amplia (Figura 7).

MR1: (Masculino. Regresión estado 1). Regresión inicial o evacuación parcial. En los septos gonadales la LGT persiste representando nuevas ondas de maduración. Sin embargo, se destacan los diferentes grados de desorganización de las espigas de espermátidas elongadas que han completado la citodiferenciación y están siendo liberadas o espermiadas hacia el antro gonadal. Este espacio es mayor por la evacuación de espermatozoides, aún cuando se conservan masas de espermatozoides que eventualmente van a ser evacuados de la gónada (Figura 9).

MR2: (Masculino. Regresión estado 2). Regresión total o evacuación final. La LGT persiste en la condición extrema integrada sólo por una banda de espermatogonias sustentada en los septos de paredes perivasculares engrosadas. Sin embargo, es común observar una nueva onda de proliferación o maduración de LGT junto con los signos de regresión o evacuación de espermatozoides. En este caso, los ejemplares se clasifican dependiendo del estado predominante o más evidente y asumiendo que el proceso es dinámico y continuo (Figura 11).

FD1: (Femenino. Desarrollo estado 1). Madurez inicial. Septos gonadales sólo con LGT abundante; integrada por ovogonias, ovocitos previtelogénicos 1 (OpV1), ovocitos previtelogénicos 2 (OpV2). Los ovocitos adheridos y/o pedunculados (OVA/OVP) son escasos (Figura 4).

FD2: (Femenino. Desarrollo estado 2). Madurez avanzada. En los septos gonadales la LGT persiste, pero es característico del estado la gran cantidad de ovocitos vitelogénicos libres con cubierta gelatinosa evidente (OVL) (Figura 6).

FD3: (Femenino. Desarrollo estado 3). Madurez total. Maduro. Septos gonadales muy finos. La LGT es escasa, aunque siempre persiste, y los OVL con cubierta gelatinosa prominente repletan la gónada, ocupando totalmente el antro gonadal interseptal (Figura 8).

FR1: (Femenino. Regresión estado 1). Regresión inicial o evacuación inicial. Presencia de LGT indica una nueva onda de maduración de ovocitos. Los OVL desorganizados y en tránsito por el antro gonadal que nuevamente se hace evidente por la evacuación parcial de óvulos, es característico de este estado (Figura 10).

FR2: (Femenino. Regresión estado 2). Regresión total o evacuación final. Presencia de LGT. Escasos OVL residuales en el antro gonadal, que pueden presentar diferentes grados de citólisis. Como en los machos, una nueva onda de maduración coexistiendo con el estado de regresión gonadal indica la dinámica y continuidad del proceso de ovogénesis; por lo tanto los ejemplares son clasificados de acuerdo a la condición predominante (Figura 12).

CÁLCULO DEL INDICE GONADOSOMÁTICO

Los datos del peso de las partes blandas y peso de la gónada de ***Fissurella latimarginata***, permitieron estimar un valor del índice gonadosomático (IGS) (Giese & Pearse, 1974) de acuerdo a la expresión:

$$IGS = \frac{\text{Peso húmedo de la gónada}}{\text{Peso húmedo total de las partes blandas}} \times 100$$

Los resultados del IGS, obtenidos para cada individuo, se expresaron en tablas y gráficos como la media aritmética ± la desviación estándar de machos, hembras y el total por localidad.

Las variaciones del IGS por mes de muestreo y por localidad, se determinaron desarrollando un análisis de varianza de una vía (α= 0.05), con una sola muestra por grupo (Steel & Torrie, 1988) en el programa EXCEL 97, previa transformación angular de los datos, como lo recomiendan Sokal & Rohlf (1995) para el tratamiento estadístico de proporciones.

DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE LA CINÉTICA DE LA GAMETOGÉNESIS

Para el desarrollo de este objetivo se utilizaron las preparaciones histológicas obtenidas para el estudio cualitativo del ciclo reproductivo.

En machos de ***Fissurella latimarginata***, la cinética se estimó con la variación en altura experimentada por la línea germinal, diferenciada en dos regiones que conforman múltiples columnas o bandas delimitadas de células germinales organizadas desde el vaso hemolinfático del septo hacia el antro gonadal (Figuras 3, 5 y 7), en una distribución centrífuga radial. Estas corresponden a la LGT (espermatogonias-espermatocitos-espermátidas redondas indiferenciadas) en la región basal y a la LGA (espermátidas alargadas en citodiferenciación–espermátidas terminales) en la región antral (Figura 13 a). La medición de cada columna de células germinales se llevó a cabo en cuatro secciones histológicas por individuo utilizando un ocular micrométrico graduado (12,5 X) y usando el mismo objetivo (25 X), como lo sugieren Die ***et al.*** (1995), para observar con el mismo aumento (312,5 X). En cada sección se escogieron al azar cinco campos

microscópicos (en total 20 mediciones por región germinal por individuo), registrándose la altura (µm) de ambas regiones de células germinales en planos longitudinales o transversales. Previamente fue necesario asegurar que las secciones trabajadas fueran representativas de la distribución de los septos en toda la gónada. En la observación microscópica, se pudo establecer la homogeneidad en la distribución y ramificación de las trabéculas de tejido conectivo asociado a tejido gonadal. Las mediciones de las dos regiones de células germinales (LGT y LGA) en ambos planos, para tres campos ópticos por cada sección histológica de cada uno de nueve animales maduros, no mostraron diferencias significativas al análisis de varianza de dos vías entre los animales ni entre los planos ($p > 0.05$; $\alpha=0,05$).

Una condición para comenzar las mediciones es situar los campos microscópicos desde la pared gonadal hacia el antro gonadal común, además de medir sólo en cortes totalmente transversales y/o longitudinales que pasen por el centro del vaso hemolinfático de las trabéculas o septos gametogénicos (Figura 7).

Los valores obtenidos (µm) se presentaron como medidas promedio ± la desviación estándar de la muestra mensual, para cada región de células germinales (LGT y LGA) y expresados en tablas y gráficos por localidad.

A fin de comparar los valores en machos de ***F. latimarginata***, se hicieron análisis de varianza de una vía ($\alpha= 0.05$) para examinar el efecto de la localidad y el mes de muestreo sobre los promedios mensuales de la altura de las regiones de células germinales (LGT y LGA). Posteriormente se realizaron análisis no paramétricos (***a posteriori***) para probar todas las diferencias entre pares de medias mensuales de ambas regiones, mediante el método ***T´*** de Spjøtvoll & Stoline para n distintos. Esta prueba utiliza el valor crítico $Q_{\alpha(k,v)}$, llamado rango

estudentizado aumentado como estadístico para determinar significancia y que se resume en la tabla estadística ***J***. En ésta se muestran los valores críticos para la distribución de los rangos, con ***k*** items distribuídos normalmente (media mensual) y con ***v*** grados de libertad de la desviación estándar ((n – 1) para cada mes). En resumen, a un par de medias (Y_i ; Y_j) se les denomina significativamente diferentes (α= 0.05) si y sólo si esta diferencia iguala o excede la diferencia crítica o mínima diferencia significativa (MSD), es decir, si $| Y_i - Y_j | \geq$ MSD, donde MSD = ($Q_{\alpha(k,v)}$ * error estándar (E.E.)). El tratamiento estadístico de los datos, se realizó en el programa STATISTICA 97. Complementando el análisis estadístico posteriormente se construyeron rangos de talla para cada una de las regiones (modificado de Grant & Tyler, 1983b), en que se registraron las frecuencias (%) de cada una de ellas. Se construyeron tablas y polígonos de frecuencia con los datos obtenidos y posteriormente se creó una tabla de contingencia **r x c**, donde **r** correspondió al número de clases de talla y **c** al número de meses muestreados. Se preestableció que todos los individuos, dentro de cada mes, se encontraban en una condición de madurez gonadal similar. Luego, la frecuencia esperada para cada celda de la tabla (**e ij**) se calculó con la expresión matemática:

$$e_{ij} = (R_i \times C_j) / \sum_j C_j$$

De donde **R i** representó el total de individuos en el iésimo rango de talla, sumando todos los animales, **C j** el número total de individuos en el jésimo mes y $\sum$ **j C j** al número total de animales medidos. Se computó entonces el estadístico:

$$G = \sum \left((o_{ij} - e_{ij})^2 / e_{ij} \right)$$

distribuído χ^2 donde la sumatoria se lleva a cabo tomando en cuenta todas las celdas **r x c** y donde **o ij** corresponde a las frecuencias observadas. Si todos los individuos dentro de los meses se encontraban en el mismo estado de desarrollo, **G** se distribuiría χ^2 con (r – 1)(c – 1) grados de libertad. De donde se plantea que, si **G** $\geq \chi^2$ (α= 0.05) entonces existiría diferencias en la composición por rango de talla de la línea germinal, en los meses estudiados. En el caso de haber diferencias significativas, se examinaron las clases de y los meses que contribuyeron en mayor medida al valor de χ^2, calculándose su composición residual de acuerdo a la expresión:

$$r_{ij} = (o_{ij} - e_{ij}) / e_{ij}$$

donde **r ij** es un residuo que se estandariza al dividirlo por su varianza esperada **v ij** , calculada según :

$$v_{ij} = \left(1 - (R_i/n)\right)\left(1 - (C_j/n)\right)$$

en que **n** es el número total de animales medidos. Como información resumida de la variación mensual de los rangos en cada clase, los valores residuales se registraron en tablas y gráficos. En éstas, un residuo positivo indicó que la frecuencia de individuos en un determinado rango de talla, fue mayor de lo esperado, sucediendo lo contrario con los valores negativos.

En las hembras, se determinó la cinética de la línea germinal de acuerdo al registro del número de ovocitos mediante la superposición de un marco de área conocida (0,072 mm^2), en un aumento de 312,5 X, sobre imágenes escogidas al azar de porciones microscópicas de planos histológicos transversales y longitudinales. (Figura 13 b). Los recuentos se realizaron desde la pared gonadal que reviste el ovario y desde las trabéculas o septos proyectados hacia el espacio o antro gonadal. Las imágenes fueron captadas usando un equipo de videomicroscopía (cámara de video Cohu Mod. 4812 5000/0000 adaptada a un microscopio óptico Leitz Orthoplan). Posteriormente se visualizaron y analizaron en un computador (Power Macintosh 7500/100) a través del programa de análisis de imágenes NIH image 1.60, diseñado en el U. S. National Institute of Health y disponible en Internet en http://rsb.info.nih.gov./nih-image/.

Para efectuar los recuentos se adoptó el criterio de Christiansen ***et al.*** (1972, 1973), el cual sugiere considerar los elementos ubicados dentro del marco del retículo utilizado, que en este estudio corresponde a un área demarcada, incluyendo aquellos situados en la periferia del margen superior e izquierdo y con centros de gravedad en las líneas de borde del sistema (Figura 13). Se tomaron en cuenta tres secciones histológicas por preparación en cada una de los cuales se escogieron tres campos microscópicos al azar (en total 9 áreas de conteo por individuo). En cada campo se registró el número total de ovocitos previtelogénicos, ovocitos vitelogénicos adheridos a las trabéculas y ovocitos vitelogénicos libres maduros, como una selección de lo tipos celulares representativos de la madurez inicial y avanzada, estados decisivos en la caracterización de un ciclo reproductivo.

Los resultados se presentaron como promedios ± la desviación estándar de cada tipo celular (número de ovocitos por área) por mes de muestreo y se resumieron en tablas y gráficos por localidad.

Según Sokal & Rohlf (1995), los datos derivados de conteos frecuentemente poseen una distribución Poisson más que normal, por lo que se utilizó la expresión $\sqrt{Y+1/2}$ para codificar aquellos conteos que incluyen el valor cero y para lograr que las varianzas y las medias se hicieran independientes normalizando los datos. La detección de diferencias significativas se realizó a través de un análisis de varianza de una vía (α= 0.05), entre las localidades y los meses de muestreo, en el programa STATISTICA 97. Para probar diferencias temporales en el comportamiento de cada tipo celular, se realizaron análisis no paramétricos ***a posteriori*** (método ***T´*** de Spjϕtvoll & Stoline) (Sokal & Rohlf, 1995). Se desarrolló una comparación del número de ovocitos (OPV, OVA, OVL), mediante el análisis no paramétrico de tablas de contingencia **r x c** anteriormente señalado, con el fin de explicar en detalle el comportamiento temporal de la cinética de los tipos celulares de la línea germinal femenina.

RESULTADOS

CICLO REPRODUCTIVO CUALITATIVO DE *FISSSURELLA LATIMARGINATA*

Los diferentes estados histológicos de la línea germinal, de machos y hembras, se presentan en las Figuras 3 a 12.

PUNTA COLOSO : La distribución mensual de la frecuencia (%) de estados gonadales, se presenta en las Tablas 2 y 3 y en las Figuras 14 y 15.

Los tipos celulares de la línea germinal masculina mostraron una disposición radial centrífuga desde el septo hacia el antro gonadal distinguiéndose dos zonas o regiones de células germinales perfectamente reconocibles (Figura 5):

→ Una región basal, en la que se desarrolla la línea germinal temprana (LGT) y que comprende espermatogonias en contacto con la lámina basal y el tejido conectivo perivascular, seguidas por espermatocitos y espermátidas redondas indiferenciadas (Figura 3).

→ Una región antral, caracterizada por la línea germinal avanzada (LGA) estructurada por espermátidas en citodiferenciación o espermiohistogénesis. Estas se encuentran asociadas a células somáticas formando columnas que adquieren un aspecto plumular o en espigas, desarrollando los flagelos hacia el antro gonadal (Figura 7).

El proceso de espermatogénesis presentó una cinética expresada en las variaciones en altura de cada una de las regiones de células germinales. Cuando las espermátidas alcanzan la madurez, son espermiadas al antro gonadal donde se acumulan como espermatozoides desorganizados que

ocupan esta cavidad. Ésta situación permite determinar, en machos adultos, los estados de regresión o evacuación de gametos en el ciclo reproductivo (Figuras 9 y 11).

El período de muestreo en la localidad de Punta Coloso se caracterizó por la presencia de más de un estado gonadal por mes (Figura 14). El estado de desarrollo inicial de la línea germinal (MD1, Figura 3) no se manifestó desde agosto a octubre de 1995. En noviembre del mismo año apareció solamente un individuo en estado MD1 (7,1%). Este estado no se presentó en diciembre (0%) y desde enero de 1996 hubo un incremento hasta alcanzar su frecuencia máxima en marzo (5,9%, 25%, 81,3% respectivamente). Posteriormente la condición MD1 no se registró sino hasta julio (42,9%, Tabla 2). La mayor proporción de individuosen estados MD1 se produjó en marzo (81,3%) y julio (42,9%), aunque en este último mes fue considerablemente menor.

El estado de madurez avanzada (MD2) se encontró representado en 9 meses de muestreo (Figura 5). En agosto se registró un 20% de animales en estado de madurez avanzada. Aun cuando no se encontró en septiembre, alrededor de un tercio de los ejemplares presentó esta condición disminuyendo hacia diciembre y experimentando un nuevo incremento que en febrero alcanzó el máximo observado (35%). Desde marzo a julio la frecuencia de animales en este estado fue baja y no se presentó en el período mayo-junio.

Aunque el estado de madurez total (MD3) no estuvo presente en noviembre, marzo ni julio, su frecuencia superó el 20 % en el resto de los meses de muestreo (Figura 7). En septiembre (69,2%), diciembre (95%) y junio (76,5%) se registraron las mayores proporciones de animales totalmente maduros. En cambio en los meses siguientes los valores fueron variables: agosto (40%), abril (25%) y mayo (37,5%). Sin embargo, es importante destacar la continua disminución del número de machos MD3 desde septiembre hasta noviembre (69,2%, 25% y 0% respectivamente); desde

diciembre a marzo (95%, 23,5%, 30% y 0%) y desde junio a julio (76,5% a 0%), siendo esta última disminución la más abrupta.

En las hembras estudiadas, no se distinguió claramente la distribución radial centrífuga en que se organizan las distintas generaciones de células germinales durante la ovogénesis. La región basal corresponde a la línea germinal temprana conformada por ovogonias, ovocitos previtelogénicos (OpV1 y OpV2) y ovocitos vitelogénicos adheridos (OVA) (Figuras 4 y 6). Como en los machos, la región antral corresponde a la línea germinal avanzada, pero integrada por ovocitos vitelogénicos pedunculados que se proyectan hacia el antro y por ovocitos vitelogénicos libres (OVL) que ocupan este espacio (Figura 8). Es posible determinar estados gonadales al observar las variaciones que se producen en el desarrollo de ambas regiones de células germinales. También se puede evidenciar la evacuación o estado de regresión, a través de la detección de OVL desorganizados y en tránsito por el lumen de la gónada que se encuentra aumentado en volumen y por medio de la observación de OVL residuales (Figuras 10 y 12).

Al igual que en los machos, fue posible detectar más de un estado de desarrollo gonadal por mes de muestreo exceptuando el estado FD3, en diciembre, que presentó un 100% de animales totalmente maduros (Figura 15). El estado de madurez inicial (FD1) no se presentó en septiembre, noviembre, enero, febrero ni junio (Figura 4). En el resto del período siempre resultó menor al 40%, siendo marzo a mayo el período con mayor proporción de animales en esta condición, fluctuando entre 35,7% y 21,4% (Tabla 3).

La madurez avanzada en hembras (FD2) no se manifestó en diciembre, enero, febrero ni junio; en cambio, se evidenció en frecuencias descendentes desde agosto a octubre (27,3%, 11,8% y 11,1% respectivamente) (Figura 6). En noviembre se determinó un 56,3% de individuos en este

estado, que reaparece en marzo con una frecuencia de 57,1%, continuando con frecuencias en decremento hasta junio. Por otra parte, se debe mencionar que la mayor proporción de individuos en estado FD2 se produjo en julio (62,5%).

Los individuos en estado FD3 se detectaron con una alta frecuencia en septiembre (88,2%), diciembre (100%) y junio (92,3%). Por otro lado, las menores frecuencias se manifestaron en noviembre (6,3%), marzo (7,1%) y julio (0%), luego de presentar valores altos y en decremento en los meses anteriores. En resumen, se produjeron 3 descensos consecutivos y claramente distinguibles en duración y magnitud en el período de estudio (septiembre a noviembre; diciembre a marzo y junio a julio).

En relación con los estados de regresión o evacuación gonadal, en 11 de los 12 muestreos poblacionales se encontraron machos con gónadas en evacuación inicial (MR1) (Figura 9). Se detectó un aumento de animales en estado MR1 desde agosto hasta octubre (20% a 42%), estado que posteriormente se presentó en forma discreta en noviembre (7,1%) para desaparecer en diciembre. En enero de 1996 se registró un 35,3%, que antecedió a las bajas proporciones de individuos en la condición MR1 en febrero (5%) y en marzo (6,3%). En abril se logró la máxima frecuencia con un 56,3%, para disminuir hasta un valor mínimo de 14,3% en julio.

El estado de evacuación final o regresión total (MR2), se expresó en el primer mes de muestreo (agosto) con un 20%; luego en noviembre, con la máxima frecuencia (64,3%) y en enero (23,5%) contrastando con una alta proporción de animales en estado MD3 en el mes anterior (Figura11). En el período febrero-marzo se manifestaron bajas frecuencias asociadas con una gran proporción de individuos en estado MD3. El segundo valor en importancia se presentó en julio (35,7%).

El estado FR1 se presentó en 8 meses de muestreo donde sus menores proporciones, excepto marzo, coincidieron con las máximas frecuencias de animales en estado FD3 (septiembre, octubre, diciembre y enero) (Figura 10). Por el contrario, las mayores frecuencias de individuos en estado FR1 se encontraron en febrero (57,1%) y abril (38,5%), coincidiendo con frecuencias intermedias de individuos maduros (FD3). La condición FR2 se presentó sólo en noviembre (18,8%), presentando la misma frecuencia que FR1 y asociada a una baja frecuencia de FD3, junto con una gran proporción de animales en estado de madurez avanzada (FD2) (Figura 12).

En el total poblacional de estados histológicos cualitativos se apreció la mayor frecuencia del estado de evacuación gonadal final (R2) en noviembre (40%), correspondiéndose con una gran cantidad de animales en estado R1 en octubre (31,4%) (Tabla 4, Figura 15). También se observaron animales en estado R2 en enero (13,8%), junto con una gran frecuencia de individuos en estado R1 (37,9%) en el mismo mes. Por último, en julio se presentó un 16,7% de individuos en estado R2. La población se encontró siempre con una alta proporción de individuos en la condición de madurez total (D3), asociada a mínimas frecuencias del resto de los estados, en septiembre (80%), diciembre (96,5%) y junio (83,3%).

LOS VILOS: Las variaciones porcentuales de las frecuencias de estados gonadales de machos y hembras de ***Fissurella latimarginata***, se presentan en las Tablas 5 a 7 y en las Figuras 16 y 17.

Desde agosto hasta octubre se observaron machos en estado de madurez inicial (MD1), condición que no se presentó desde noviembre a enero (Tabla 5 y Figura 3). En marzo se observó

la mayor frecuencia de individuos en estado MD1 (27,3%), decayendo en los meses siguientes, hasta no encontrarse representado en el período mayo-junio.

El estado MD2 se evidenció desde agosto (17,6%) hasta diciembre (7,7%), con una frecuencia nula en enero. Posteriormente alcanzó las frecuencias más altas en marzo y abril. Durante mayo y junio no estuvo presente y en julio se registró en un 18,8% de los individuos.

El estado de madurez total (MD3) presentó variaciones consecuentes a las de MD1 y MD2, con frecuencias que aumentaron en el período agosto-septiembre (29,4%), llegando al 64,7% en noviembre. Luego de disminuir abruptamente hasta un 0% en enero, se elevó a un 64,7% en febrero y no se presentó en marzo. Ininterrumpidamente desde abril a julio fue posible apreciar la existencia de animales en estado MD3, alcanzándose las mayores frecuencias de este estado en mayo y junio (88,2% y 93,3%).

La condición de madurez inicial en hembras (FD1) no se manifestó en agosto y aunque en todo el período la proporción fue baja, se registraron los valores de máxima frecuencia en marzo (21,1%) y julio (17,6%) (Tabla 6).

Aunque presente durante la mayor parte del año, el estado de madurez avanzada (FD2) no se registró durante septiembre, noviembre, enero ni mayo. Por otro lado, las mayores frecuencias se registraron en febrero (31,3%) y marzo (68,4%).

La presencia de individuos con gónadas totalmente maduras (FD3) se registró en todos los meses de muestreo, excepto en marzo, correlacionándose con una gran cantidad de animales en estado FD2 y algunos en FR1. Además, fue posible detectar tres períodos en que las frecuencias porcentuales disminuyeron en forma continua: agosto-septiembre (60% a 53,8%); enero-marzo (70% a 0%), el de mayor importancia, y por último, mayo-julio (92,3% a 41,2%).

Con respecto al estado de evacuación inicial de los machos (MR1), ésta condición se registró durante todos los meses de muestreo exceptuando julio. En septiembre (52,9%), diciembre (69,2%) y enero (80%) se registraron las mayores frecuencias, coincidiendo con valores bajos de MD3. En general, la evacuación total (MR2) se presentó en pequeñas frecuencias durante todo el período de estudio y no se observó en diciembre, abril ni junio. Por el contrario, se registraron máximos en agosto (23,5%), enero (20%), marzo (27%) y julio (18,2%).

En el caso de las hembras, la condición FR1 no se expresó en abril ni en mayo. No obstante, fue posible constatar que los valopres máximos de septiembre (30,8%) y noviembre (26,7%) se correspondieron con las únicas apariciones de FR2 durante todo el período. A estos valores máximos les siguieron continuas disminuciones en los meses posteriores. Además, en enero se registró un 5% de animales en evacuación total (FR2).

La distribución de estados gonadales de la población total de Los Vilos registró evacuación gonadal total (R2) casi ininterrumpidamente. La excepción fueron diciembre (0%), abril (0%) y junio (0%). Por otra parte, en agosto (14,8%), enero (10%), marzo (10%) y julio (7,1%) se obtuvieron los valores máximos de frecuencia (Tabla 7, Figura 17). Se presentó siempre la condición de madurez gonadal total (D3). Sólo en marzo no se registraron individuos en este estado, el cual por el contrario, alcanzó las más altas frecuencias en mayo (90,1) y junio (80,1).

CICLO REPRODUCTIVO CUANTITATIVO EN *FISSURELLA LATIMARGINATA*

VARIACIÓN DEL ÍNDICE GONADOSOMÁTICO (IGS)

PUNTA COLOSO : Los resultados de IGS por muestreo, para machos, hembras y el total poblacional, se presentan en la Tabla 8 y en la Figura 18 A. Los resultados del análisis estadístico se presentan en la Tabla 10. La variación del IGS de ***F. latimarginata*** siguió una tendencia similar en ambos sexos, en que las diferencias mostradas entre ellos no fueron significativas ($p>0,05$, ANDEVA 1 vía, $\alpha=0,05$) (Tabla 10). Por el contrario, el análisis de varianza de 1 vía indicó diferencias temporales significativas entre los totales poblacionales de IGS en la localidad de Punta Coloso ($p<0,01$, ANDEVA 1 vía, $\alpha=0,05$) (Tabla 10, Figura 18 A). En machos, los valores obtenidos fluctuaron entre 4,6 (mayo) y 21 (diciembre). Se observaron evidentes y sucesivos descensos del IGS entre septiembre y noviembre (14,5 a 9,7); diciembre y enero (21 a 9,8) y desde febrero a marzo (14,9 a 9,6). El período abril-julio presentó los valores más bajos. Algo parecido sucedió en las hembras, en las que los valores más altos se registraron en septiembre (14,6), diciembre (20,3) y febrero (14,5) y se repitieron los meses de descensos. En los promedios totales se aprecia una heterogeneidad de las muestras, expresada en los valores de desviación estándar, en diciembre y febrero (6,3 y 5,5 respectivamente) (Tabla 8). Los valores de IGS más homogéneos, del total poblacional, se registraron en marzo (d. e.= 2,8) y desde mayo a julio (d. e.= 2,1 a d. e.= 1,4 respectivamente) (Tabla 8).

LOS VILOS : Los resultados de IGS por muestreo, para machos, hembras y el total poblacional, se resumen en la Tabla 9 y en la Figura 18 B. Los resultados del análisis estadístico se resumen en la Tabla 10.

Nuevamente la fluctuación de los valores de IGS fue similar en machos y hembras, sin presentar diferencias significativas entre ambos sexos ($p > 0.05$, Tabla 10) (Figura 18 B). Sin embargo, existen diferencias temporales significativas de IGS ($p < 0,01$, $\alpha = 0,05$) . En los machos se obtuvieron los valores más altos en octubre (9,38), noviembre (9,7), enero (9,2), abril (9,62) y mayo (9,98). Se observaron evidentes descensos en diciembre (7,4), marzo (4,7) y julio (4,7). En las hembras se obtuvo el valor máximo de IGS en noviembre (12,8) y en el período abril-mayo-junio (9,3; 9.0 y 8,5 respectivamente), descendiendo en diciembre, marzo y julio. La mayor heterogeneidad de los datos se registró en octubre (d. e.= 6,2), abril (d. e.= 6,8) y mayo (d. e.= 6,6). Por el contrario, los datos más homogéneos se registraron entre diciembre y marzo. La mayor variación de los datos se produjo en agosto (d. e.= 8,5), noviembre (d. e.= 6,6) y abril (d. e.= 6,4).

Los valores máximos del total poblacional de IGS se obtuvieron en los períodos octubre-noviembre y abril-junio, cuando a la vez se presentó una gran variabilidad de los datos. Los menores valores de desviación estándar se presentaron en el período diciembre-febrero, en cambio la mayor variabilidad se observó en agosto (d. e.= 8,2) (Tabla 9). En ambos sexos se produjeron diferencias significativas entre las localidades ($p < 0,05$; Tabla 10).

La generalidad en el patrón de IGS, fue la presencia de períodos en que los valores altos fueron seguidos por pronunciados descensos en los meses posteriores (Figura 18 B).

VARIACIÓN DE LA LÍNEA GERMINAL EN MACHOS DE *FISSURELLA LATIMARGINATA*

PUNTA COLOSO : Los resultados de las mediciones microscópicas de la altura de la línea germinal en machos se registran en la Tabla 11 y en las Figuras 19, 21 y 22. Los resultados del análisis estadístico se presentan en las Tablas 13 a 19.

Con respecto a los registros de la altura de las regiones de células germinales masculinas de Punta Coloso, podemos advertir una correspondencia con las frecuencias de estados histológicos cualitativos mes a mes. Es así como en agosto se presentaron alturas intermedias de LGT (41,9 µm) y LGA (34,6 µm), que coincidieron con la distribución de valores intermedios de la frecuencia de estados gonadales (20% MD2, 40% MD3, 20% MR1 y 20% MR2). Por otra parte, en septiembre ya es evidente un pequeño aumento en la altura de ambas regiones (46,4 µm de LGT y 47,8 µm de LGA), coincidiendo con el aumento en la frecuencia de los únicos estados de desarrollo registrados MD3 (69,2%) y MR1 (30,8%). Es necesario recordar que la condición MD3 supone una predominancia de la región "madura" (LGA) representada por espigas de espermátidas elongadas (Figura 7); y que la regresión inicial de la gónada masculina (MR1) manifiesta una evacuación inicial de gametos maduros, luego de lo cual persiste siempre una considerable región de LGT. Por consiguiente, es válido puntualizar que el aumento de la LGT (61,2 µm) y la pequeña disminución de LGA (44,7 µm) en octubre, se corresponden con el aumento de individuos MR1 (45%) y el decremento de MD3 (25%). Además es una expresión de la presencia de MD2 (30%), debido a que se observaron septos con gran cantidad de espermatocitos, espermátidas redondas (LGT) y la presencia en menor escala de espermátidas elongadas (LGA) (Figura 5). Consecuentemente en noviembre se presentó una evidente predominancia de la LGT, que llega a su máxima altura (88,5

µm); y un valor mínimo de LGA (27,3 µm) (Tabla 11). Este hecho se relaciona con la existencia simultánea de la mayor frecuencia de MR2 del período de estudio (64,3%), con valores bajos y homogéneos de MD1 (7,1%), MD2 (21,4%) y MR1 (7,1%) y con la ausencia de MD3. Prosiguiendo con el análisis de los datos, en diciembre se registró una baja altura de LGT (55 µm) y el mayor valor de LGA (88,2 µm), coincidiendo con una gran cantidad de individuos MD3 (95%). En cambio, en el mes siguiente (enero) se produjo una nueva alza en los valores de LGT (81,1 µm) y una declinación en los de LGA (44 µm), reiterada en marzo, cuando se obtuvo la disminución más significativa en la altura de la LGA . Hasta ahora se ha descrito el primer tramo de las curvas de la cinética de los componentes celulares de la línea germinal masculina de ***Fissurella latimarginata*** (Figuras 19 A y B). En adelante, se producen dos períodos de disminución de la altura de LGA : uno menor desde abril a mayo (41,5 a 33,6 µm) y uno mayor desde junio a julio (64,7 µm a 32,3 µm). Este último período coincide con el segundo valor máximo del estado MR2 (35,7%), con individuos en estado MD1 (42,9%) y con la ausencia del estado MD3, lo cual se aprecia en el segundo tramo de las curvas de la cinética de la línea germinal.

Las variaciones en la altura de LGT resultaron significativamente diferentes entre las localidades ($p < 0.01$, $\alpha = 0.05$, ANDEVA de una vía), en cambio, la LGA no presentó igual condición ($p > 0.1$) (Tabla 13). El método *T´* de Spjøtvoll & Stoline demostró que las diferencias significativas entre las medias muestrales de LGA, se deben a los valores máximos (diciembre y junio) y mínimos (noviembre y marzo), no consecutivos, producidos en el período de estudio (Tabla 15). De igual forma ocurrió en la LGT que presentó los promedios máximos en noviembre, enero, febrero, marzo y valores mínimos en agosto (Tabla 14). Tanto la LGT como la LGA presentaron diferencias

temporales significativas al análisis de varianza de una vía ($p<0,01$, ANDEVA 1 vía, $\alpha=0,05$) (Tabla 13).

La composición de las regiones de células germinales (LGT y LGA) por rangos de talla, se presentan en las Tablas 16 y 17 y en la Figuras 21 y 22.

Los valores de frecuencia por rangos de talla se resumen en la composición residual estandarizada, que indica con signos positivos (sombreados) el aumento de la altura en micrones (Tablas 18 y 19). Desde agosto a noviembre la LGT aumentó en altura al desplazarse hacia la derecha (rangos mayores), a la vez que la LGA lo hace hacia la izquierda (Tablas 16, 17 y Figuras 21, 22). Desde diciembre hasta marzo, se produjo un nuevo desplazamiento de la LGT hacia la derecha y en consecuencia, hacia la izquierda para la LGA. Finalmente, el último desplazamiento hacia la derecha desde abril hasta junio culmina en julio con una gran cantidad de individuos distribuídos en los menores rangos de talla (desplazamiento hacia la izquierda).

El mayor número total de individuos por rangos de talla de LGT, se produjo en el rango 45-60 µm (62 animales) y 60-75 µm (57 animales) (Tabla 16). En la LGA, el mayor número total se registró en el rango 15-30 µm (56 animales) y 30-45 µm (54 animales), además de los 47 animales distribuídos en el rango > 60 µm (Tabla 17).

Los valores del estadístico G, obtenidos de las tablas mes por rangos de talla, fueron significativos para ambas regiones de células germinales al superar el valor de $\chi^2_{(0.05,121)}$ (99,5) (G= 171 en LGT y G= 185 en LGA) (Tabla 11).

LOS VILOS : Los resultados de las mediciones microscópicas de la altura de las regiones de células germinales masculinas se registran en la Tabla 12 y en las Figuras 20, 23 y 24. Los resultados del análisis estadístico se presentan en las Tablas 13 y 20 a 25.

En la población de ***F. latimarginata*** de Los Vilos también se evidenció la correspondencia entre los valores obtenidos para la LGT y la LGA. En esta localidad, la línea germinal avanzada (LGA) experimentó tres períodos de recuperación: septiembre a noviembre; enero a febrero y marzo a junio, con el consecuente decremento de la altura de la LGT. Posterior al último mes de cada período (diciembre, marzo y julio), la LGA disminuyó coincidiendo con la presencia de individuos en estado de evacuación inicial (MR1) y total (MR2), que evidenciaron un aumento en la LGT (Tabla12 y Figura 20 A y B). La coincidencia recíproca de valores altos y bajos de la altura de LGT y LGA, se aprecia en las probabilidades calculadas por el método ***T´*** que señalan a los mayores y menores promedios mensuales, no consecutivos, como los causantes de las diferencias significativas (Tablas 20 y 21).

Los residuos estandarizados obtenidos para cada región de células germinales, muestran estos desplazamientos mediante cambios de signo y valor absoluto (Tablas 24 y 25). Desde agosto a noviembre, la LGA evidenció un aumento en la frecuencia de individuos que forman parte de los mayores rangos de talla (desplazamiento hacia la derecha), junto con el aumento de la frecuencia en los rangos menores de LGT durante el mismo período (Tablas 22, 23 y Figuras 23, 24). Además, desde noviembre a enero se aprecia un desplazamiento de la LGA hacia la izquierda y consecuentemente hacia la derecha para LGT en el mismo período. Por otro lado, desde febrero a junio se produjo una progresiva recuperación de la LGA culminando con un abrupto descenso en julio (Tabla 23 y Figura 24). Para la LGT se observa la situación inversa (Tabla 22 y Figura 23).

El mayor número total de individuos por rangos de talla de la LGT durante el período de estudio, se produjo en el rango 60-75 µm con 55 animales (30,9%) y > 75 µm con 58 animales (32,6%) (Tabla 22). En la LGA esto sucede en el rango > 60 µm con 60 animales (33,7%) (Tabla 23).

Los valores del estadístico G, obtenidos de las tablas mes por rangos de talla, fueron significativos para ambas regiones de células germinales al superar el valor de $\chi^2_{(0.05,121)}$ (99,5) (G= 156,8 en LGT y G= 154,1 en LGA) (Tabla 11).

VARIACIÓN DE LA LÍNEA GERMINAL EN HEMBRAS DE *FISSURELLA LATIMARGINATA*

PUNTA COLOSO : Los resultados de los recuentos microscópicos del número de ovocitos por área en hembras de ***F. latimarginata*** se resumen en la Tabla 26 y se muestran en las Figuras 25 y 27 A. Los resultados del análisis estadístico se resumen en las Tablas 28 a 32.

Los recuentos por área de los ovocitos previtelogénicos (OPV) no presentaron diferencias temporales significativas al análisis de varianza de una vía ($p > 0,05$, ANDEVA 1 vía, $\alpha = 0,05$)(Tabla 28). A través del análisis ***a posteriori*** (método ***T'***) se estableció que las diferencias significativas, al comparar los promedios mensuales, son producidas por los menores (septiembre, diciembre, junio) y mayores promedios mensuales registrados (noviembre, marzo y julio) (Tablas 26 y 29 y Figura 25 A).

Los conteos microscópicos de ovocitos vitelogénicos adheridos (OVA) no superaron los 4 OVA por área. El análisis de varianza indicó diferencias temporales y espaciales (entre localidades)

significativas ($p < 0,05$, ANDEVA 1 vía, $\alpha = 0,05$) (Tabla 28). El análisis ***a posteriori*** señaló una variación anual producida por los promedios mensuales mínimos (septiembre, diciembre y junio) y máximos (julio y noviembre) del período de estudio (Tabla 30 y Figura 25 B).

Los conteos de ovocitos vitelogénicos libres (OVL) resultaron en diferencias significativas entre los meses no así entre las localidades muestreadas ($p > 0,05$, Tabla 28). El método ***T´*** indicó que las variaciones significativas entre los promedios mensuales se originan en los valores más bajos (noviembre, marzo y julio) (Tablas 26 y 31 y Figura 25 C). Estos coincidieron con una baja frecuencia de FD3 y una gran proporción de FR1. La cinética de la línea germinal femenina de Punta Coloso se resume en los valores de residuos estandarizados calculados para los recuentos celulares por área, recapitulando las variaciones presentadas por cada uno de los tipos celulares (Tabla 32 y Figura 27 A).

El estadístico G (29,1) registró un valor significativo superior al de $\chi^2_{0,05;33}$ (8,5) (Tabla 26).

LOS VILOS : Los resultados de los recuentos microscópicos (N° ovocitos / área) en hembras de ***F. latimarginata*** se registran en la Tabla 27 y se muestran en las Figuras 26 y 27 B. Los resultados del análisis estadístico se presentan en las Tablas 28 y 33 a 36.

En la población celular gonadal de los individuos de Los Vilos se presentaron valores homogéneos de ovocitos previtelogénicos (OPV), aunque con algunas variaciones determinadas con el análisis ***a posteriori*** (Tablas 27, 33 y Figura 26 A). Este indica que en julio y en marzo se produjeron diferencias, en valor absoluto, mayores que la MSD y por ende significativas.

Se distingue la escasa presencia de ovocitos vitelogénicos adheridos (OVA) en los conteos, que no alcanzan la unidad en ninguno de los muestreos realizados (Tabla 27). El análisis de

varianza presentó diferencias temporales significativas ($p < 0,05$) (Tabla 28). Diciembre, enero y marzo son los meses en que se presentaron diferencias significativas (> MSD) según el método ***T´*** (Tabla 34 y Figura 26 B).

El número de ovocitos vitelogénicos libres (OVL) presentó dos claras tendencias: un descenso paulatino desde octubre a enero y otro desde abril a julio (Tabla 27). El término de ambos períodos siempre coincidió con la menor frecuencia de FD3. Dos declinaciones menos evidentes en los promedios mensuales de OVL ocurrieron en septiembre y en marzo. Se produjeron diferencias temporales significativas (ANDEVA 1 vía, $p < 0,05$) (Tabla 28), que con el método ***T´*** se determinaron como diferencias mayores a la MSD en junio y julio (Tabla 35).

La cinética de la línea germinal de la población de Los Vilos está resumida en los residuos estandarizados de los recuentos celulares (Tabla 36 y Figura 27 B).

El estadístico G (10) registró un valor significativo superior al de $\chi^2_{0,05,33}$ (8,5) (Tabla 27).

En cada una de las localidades el análisis de varianza de una vía registró diferencias entre los tipos celulares femeninos ($p < 0,01$) (Tabla 28).

DISCUSIÓN

Para llevar a cabo una investigación en el aspecto reproductivo de los invertebrados marinos se han utilizado varios métodos, centrándose la mayor parte de los estudios en la determinación del ciclo reproductivo. El método histológico cualitativo, que asigna un número de estados de desarrollo a la población de células germinales de un individuo y usado indistintamente tanto en machos como en hembras, ha sido desarrollado sistemáticamente en los moluscos (Bacci,1947 a; Orton, 1956; Lewis, 1960; Ward, 1966; Newman, 1967; Young & De Martini, 1970; Girard, 1972; Joll, 1980; Niu & Fuji, 1989; Lisin ***et al,*** 1995; Brown ***et al,*** 1997; Collado, 1998.). Algunos autores recomiendan que éste debería ser complementado con técnicas cuantitativas para facilitar la interpretación de los resultados (Lucas, 1982; Tyler ***et al.***, 1982; Grant & Tyler, 1983; Die ***et al.***, 1997). En este sentido se han utilizado técnicas cuantitativas macroscópicas basadas en la relación del aspecto o condición de la gónada, con respecto a la masa corporal, resumida en el valor porcentual de un índice (Webber & Giese, 1969; Webber, 1970; Sastry, 1970; Giese & Pearse, 1974; Lozada & Bustos, 1984; Jaramillo & Navarro, 1995). Sin embargo, este procedimiento es insuficiente para profundizar en las variaciones experimentadas por la gónada a nivel celular, debido a que el índice describe las fluctuaciones en peso o volumen de la gónada en relación al cuerpo. Por consiguiente, para descifrar la cinética de una región de células germinales o de un tipo celular germinal en particular, se requiere de un método histológico microscópico de carácter cuantitativo (Schuldt, 1990; Die ***et al.***., 1995; Lisin ***et al.***, 1997). En este trabajo de tesis se realizó un estudio cuantitativo de los tipos celulares de la línea germinal de machos y hembras del arqueogastrópodo ***Fissurella latimarginata***, basándose en la técnica histológica (Brown ***et al.***, 1997) y en aspectos

estereológicos (Christiansen ***et al.***, 1972, 1973; Briarty, 1975; Lowe, 1994, Lisin ***et al.***, 1997). La medición de la altura (µm) de las regiones de células germinales masculinas (LGT y LGA) perfectamente reconocibles, debido a su disposición centrífuga desde el septo hacia el antro gonadal; y la cuantificación de los tipos celulares germinales femeninas (OPV, OVA, OVL), también reconocibles por sus características histológicas, permitieron caracterizar la cinética de la gametogénesis en dos poblaciones de ***F. latimarginata***.

Los resultados permitieron señalar que la distribución temporal de la altura de la LGT y del número de OPV se asemeja a la distribución de las frecuencias (acumuladas) de los estados D1 y D2. La LGA y los OVL siguen la distribución temporal de las frecuencias del estado D3. El estado R2 estaría caracterizado por los valores mínimos de LGA, OVL y máximos de LGT y OPV. Como se esperaba, los OVA siguieron la progresión de OPV y OVL en el tiempo, no obstante la cantidad representada en los conteos no se acercó a la observada en las secciones histológicas. En las poblaciones de ambas localidades (Punta Coloso y Los Vilos) la generalidad es que las determinaciones cuantitativas de ambos sexos permitieron establecer un ciclo reproductivo continuo asincrónico sin un reposo gonadal y con dos períodos reproductivos, confirmándose en el análisis histológico cualitativo. Estos se extienden desde agosto hasta marzo, principal período de la población de Punta Coloso y desde abril hasta julio, principal período de la población de Los Vilos.

En Punta Coloso las mediciones en la altura de las regiones de células germinales evidencian una notoria reciprocidad en los resultados obtenidos. Ésta se sustenta principalmente en los valores que caracterizan a la cinética gametogénica, es decir, los máximos y mínimos de LGT y LGA. La máxima altura de la LGT coincidente con la mínima de LGA correspondió al criterio para determinar los meses en que se produciría evacuación de gametos: noviembre, enero, marzo y julio.

En las hembras, un bajo número de OVL y gran cantidad de OPV determinaron el período de evacuación en noviembre, marzo y julio.

El análisis histológico cualitativo de los machos respalda los resultados cuantitativos al establecerse estados de madurez total (D3) en septiembre, diciembre y de evacuación total (R2) en noviembre y enero. En marzo se determinaron individuos en estado R2 junto con D1, indicando evacuación de gametos y el inicio de una nueva onda de maduración gonadal. En el segundo período las gónadas maduraron totalmente en junio y se obtuvieron animales en estado R2 en julio. Se destaca la mayor intensidad del primer período reproductivo. En las hembras, solamente en noviembre se presentó el estado R2 coincidiendo con el período de evacuación indicado en el mismo mes por el método cuantitativo. En marzo se presentan animales en madurez inicial (D1) y con baja frecuencia D3, coincidiendo con la disminución de la LGA. El inicio de nuevas ondas de maduración estarían caracterizadas por una gran cantidad de OPV, en las hembras, y altas frecuencias (%) de individuos en los menores rangos de talla de la LGT, en los machos, permiten establecer la sincronía de los eventos en los patrones de ciclo reproductivo de ambos sexos.

Por otra parte las fluctuaciones en el índice gonadosomático de la población de Punta Coloso permitió establecer la evacuación de gametos en noviembre, enero y marzo, coincidiendo con los resultados microscópicos cualitativos y cuantitativos. Además, el IGS presentó una disminución de sus valores desde septiembre a noviembre. En el segundo período reproductivo se observaron valores bajos con pequeñas declinaciones en mayo y julio.

En la población de fisurélidos de Los Vilos se mantiene la condición recíproca entre las fluctuaciones de la línea germinal de ambos sexos. En los machos se produce un progresivo aumento de la línea germinal madura desde agosto a noviembre y la correspondiente disminución

de la LGT para caer en enero y en menor medida en marzo, donde ocurrirían evacuaciones gonadales. El segundo período reproductivo muestra una mayor intensidad, donde la LGA crece en forma progresiva hasta el mes de junio para caer abruptamente en julio determinando la principal evacuación gonadal.

La distribución de los tipos celulares de la línea germinal de la población de Los Vilos culmina el período de aumento del número de OVL en enero, junto a un pequeño número de hembras en estado R2 y R1, que indicaría una evacuación gonadal. En marzo no se presentan animales en el estado R2 ni D3 pero sí en R1, D1 y D2 sugiriendo el inicio de nuevas ondas de maduración. En este mismo mes se presenta una disminución del número de OVL consecuente con un aumento de OPV e indicativo de otra evacuación gonadal, situación que se evidencia en julio.

El valor del estadístico G, significativo para las tablas de contingencia mes por rangos de talla (LGT y LGA) y mes por número de ovocitos (OPV, OVA y OVL), para ambas poblaciones, se interpreta como un grado diferencial de desarrollo gonadal en la actividad reproductiva anual (Tyler ***et al.***, 1982; Grant & Tyler, 1983 b). Esta diferencia se encuentra complementada con las diferencias temporales significativas encontrada al análisis de varianza de una vía para LGT, LGA, OPV, OVA y OVL. El análisis ***a posteriori*** (prueba ***T´*** de Spjøtvoll & Stoline) pudo señalar aquellos promedios mensuales extremos de la altura de la región de células germinales y del número de ovocitos que estaban aportando en mayor medida a la varianza. En casi todos los meses se obtienen promedios con valores altos de desviación estándar, lo cual sentaría un precedente que refuerza la sobreposición de los estados gonadales establecida por el método cualitativo para todos los meses de muestreo. En los meses en que se determinó evacuación gonadal mediante las técnicas cuantitativas usadas para ambos sexos, se obtuvieron los menores valores de desviación estándar

probablemente interpretados como una capacidad de sincronía entre los individuos de una misma población durante de la evacuación de gametos (Tyler ***et al.***, 1982; Grant & Tyler, 1983 b; Lisin ***et al.***, 1997). El análisis de residuos estandarizados que asignó una magnitud (valor absoluto) y un signo a los promedios mensuales de cada objeto de medida (tipos celulares), junto al comportamiento temporal de los rangos de talla de LGT y LGA, ayudaron a resaltar y apreciar las variaciones experimentadas por las regiones germinales, explicando así la cinética gametogénica masculina; de igual modo, ayudaron a determinar la progresiva sucesión de los tipos celulares femeninos con distinto grado de madurez.

Al reanalizar la sobreposición de los estados gonadales cualitativos se debe mencionar que esta también se encuentra en los ciclos reproductivos de ***F. crassa*** (Huaquín ***et al.***, 1998); ***F. latimarginata*** (Segura, 1998); ***F. latimarginata*** y ***F. cumingi*** (Brown ***et al.***,1997); ***F. latimarginata***, ***F. cumingi*** y ***F. maxima*** (Bonati ***et al.***, 1999[1]). Como se señaló anteriormente la sobreposición de estados gonadales se expresa en el predominio de los altos valores de desviación estándar de los promedios mensuales, no obstante, esta variación podría deberse a la inapropiada cantidad de conteos celulares realizados. Aunque para ello se realizó un análisis de varianza de dos vías entre las determinaciones cuantitativas de todos los tipos celulares y cortes histológicos sometidos a recuento y donde el análisis no arrojó diferencias significativas entre los tres conteos celulares ni entre los tres cortes ($p < 0,05$). Además el error estándar de las mediciones y conteos siempre fue pequeño, lo que según Grant & Tyler (1983a, b) constituye un estimador de la precisión de la técnica utilizada.

[1] Bonati, P.; Vega, G.; Figueroa, M. & H. Perez. 1999. Análisis del ciclo reproductivo de ***Fissurella*** spp. en Quintay (V región), y su potencial aplicación en acuicultura. XIX Congreso de Ciencias del Mar, Antofagasta, Chile. Página 74. Resumen.

En este estudio se detectaron pequeñas variaciones en la cinética de la línea germinal de ambos sexos. En los machos se apreció una distribución más heterogénea de las frecuencias de estados gonadales cualitativos con respecto a las hembras, lo que también se observó en la altura de la línea germinal masculina, que presentó una mayor variación respecto al conteo de los ovocitos. Esta es una expresión de la mayor dinámica gametogénica de los machos, descrita para ***F. maxima*** en el norte de Chile (Osorio, 1986[1]). La razón radica principalmente en el esfuerzo energético que experimenta la hembra en el proceso de la gametogénesis y maduración de los ovocitos (Raven, 1961). Por otro lado se encontraron diferencias entre las poblaciones de ambas localidades. La principal se refiere a la intensidad de los períodos reproductivos. En que la población de Punta Coloso presentó una gran evacuación gonadal en marzo, en cambio, la de Los Vilos en julio. Además la población de Punta Coloso presentó evacuación de gametos en noviembre, no así la población de Los Vilos. Sin embargo, a pesar de las diferencias latitudinales de ambas poblaciones estas coinciden en los restantes meses en que ocurre liberación de gametos (enero, marzo y julio). Otra diferencia se observa al realizar el análisis de varianza de una vía entre las alturas de las regiones de células germinales de ambas poblaciones, en el cual la región de LGT presentó diferencias significativas ($p < 0,05$). Estas diferencias probablemente se originaron en la menor altura que presentó la línea germinal temprana de la población de Los Vilos, con respecto a la de Punta Coloso, donde la mayor parte de los individuos se distribuyó en los mayores rangos de talla.

Con respecto a la hipótesis de trabajo planteada se debe destacar que efectivamente se

1 Osorio, C. 1986. Estudios biológicos en ***Fissurella maxima*** Sowerby 1835 en Chile. X Congreso Latinoamericano de Zoología, Viña del Mar, Chile. Página 498. Resumen.

encontraron diferencias de tipo cualitativas en relación a la duración y características de los estados de madurez gonadal entre las poblaciones de Punta Coloso y Los Vilos, enfatizándose que la cinética gametogénica determinada mediante el análisis cuantitativo de ambas poblaciones expresó estas mismas diferencias. Cuando se habla de duración se está refiriendo a la temporalidad de los sucesos reproductivos (intensidad de los períodos reproductivos) y al hablar de características se está refiriendo a la sobreposición de los estados gonadales y a la variación que existe entre la cinética gametogénica de machos y hembras. Sobre la base de estos resultados y del posterior análisis se puede concluir que **la hipótesis de trabajo se acepta**.

El método histológico, que asigna uno de cinco estados histológicos al tejido gonadal , se remite a la observación del estado R2 para obtener los meses de evacuación de gametos, que en los machos presenta una LGT con una banda de espermatogonias limitada a septos engrosados y una desorganización de la LGA con nuevas ondas de maduración de la LGT; y en las hembras presenta escasos OVL residuales y en algunos casos en citólisis con una nueva onda de maduración, coexistiendo con el estado de regresión. Para tal efecto, en ambos sexos se asume la dinámica y continuidad del proceso de espermatogénesis y ovogénesis y por ende se clasifican de acuerdo a la condición predominante. A través del método cuantitativo cada tipo celular se **mide** (♂) o **cuenta** (♀) en un área determinada. Los resultados se grafican como promedios mensuales y se observan los valores mínimos y máximos, que culminan y comienzan un período reproductivo. Para determinar el período de mayor madurez gonadal en machos se utilizan los valores máximos de LGA, recíprocos a los mínimos de LGT. Para determinar el período de evacuación gonadal se ubica, en el gráfico, cuándo la LGA presenta los menores tamaños (mínimos de LGA) y cuánco la LGT los mayores (máximos de LGT). En las hembras se aplica el mismo criterio, en que la mayor cantidad

de OVL del período de estudio indica el desarrollo máximo de la línea germinal y el menor número de OVL, junto al repunte del número de OPV, señalan una evacuación gonadal. En resumen, el método cuantitativo presentaría una mayor objetividad debido a que trabaja con valores discretos, estadísticamente comparables y de fácil interpretación del tamaño y número de los tipos celulares de interés. Al analizar la aplicación del método cuantitativo se debe tener en cuenta que surgió como una mezcla de técnicas de cuantificación (Christiansen ***et al.***, 1972, 1973; Lisin ***et al.***, 1997; Borrero, 1987), teniendo en común el tratamiento histológico efectuado en los tejidos gonadales. Además, debido al previo aislamiento de la gónada el corte de la sección siempre consistió en tejido gonadal, lo cual constituye una gran diferencia al comparar ésta técnica cuantitativa con la de la mayoría de los trabajos realizados en bivalvos, en que la gónada se encuentra inmersa en la masa visceral obligando a los investigadores a efectuar una gran cantidad de recuentos (en machos como en hembras) y en la mayoría de los casos, a referir los datos como un porcentaje del total de masa visceral (Lisin ***et al.***, 1997; Lowe ***et al.***, 1994). La dificultad anterior se vió superada debido a la mínima variación que existió entre las mediciones de la línea germinal masculina y entre el recuento de los tipos celulares gametogénicos femeninos, variación indicada en el pequeño valor del error estándar de los promedios mensuales, sugiriendo en otras palabras una estimación de la precisión de los procedimientos efectuados (Grant & Tyler, 1983a; 1983b). A los resultados obtenidos de las cuantificaciones de ovocitos y de las mediciones de la línea germinal masculina, en ambas localidades, se agregan la correspondencia con el análisis del IGS, con los resultados histológicos cualitativos y la idea de utilizar métodos complementarios en cuanto a la técnica y al tratamiento de los datos (Die ***et al.***, 1995).

Técnicamente la escasa presencia de los ovocitos vitelogénicos adheridos (OVA) no superó un promedio de 4 unidades en Punta Coloso y de la unidad en Los Vilos traduciéndose en diferencias significativas entre las localidades ($p< 0,05$; ANDEVA 1 vía; $\alpha= 0,05$) lo cual obedecería a varias razones. La primera de ellas es una aparente y muy probable subestimación del número de OVA producto de la ubicación hacia adantral del marco o área de recuento dentro del tejido gonadal. Esto se debe a que existe una ubicación diferencial de los OVA, en menor número hacia el antro gonadal y en mayor proporción hacia la pared de la gónada. Aunque el segundo período reproductivo de ambas localidades presenta una maduración rápida de la línea germinal femenina, el desarrollo de un ovocito vitelogénico adherido comprende una serie de procesos bioquímicos para la formación del vitelo. Por último, es necesario mencionar la presencia ininterrumpida de parásitos (Digenea) intragonadales y descrita por algunos autores para los fisurélidos chilenos, que posiblemente estarían causando daños de tipo mecánico en el tejido gonádico (George-Nascimento & Quiroga, 1983; Zúñiga, 1991; Oliva, 1992). Por ota parte, la presencia de gran cantidad de tejido parasitario probablemente sesgó en alguna medida la determinacion cuantitativa, puesto que al llevar a cabo los conteos de células obligó a escoger al azar otro campo microscópico. A pesar de todos los antecedentes expuestos, el pequeño tamaño de los ovocitos previtelogénicos (OPV) y su evidente ubicación hacia la pared gonadal aparentemente no produjeron la subestimación de su población celular, puesto que la distribución temporal mostró resultados comparables.

En la revisión bibliográfica realizada la mayor parte de las especies de arqueogastrópodos estudiados presentaban gónadas maduras durante todo el año en su ciclo reproductivo. Es el caso de la familia Trochidae: ***Gibbula cineria*** y ***Gibbula umbilicalis*** (Underwood, 1972); Haliotidae: ***Haliotis midae*** (Newman, 1967), ***Haliotis rufescens*** (Young & De Martini, 1967), ***Haliotis***

tuberculata (Hayashy, 1980), Turbinidae: ***Turbo intercostalis*** y ***Turbo torquatus*** (Joll, 1980). De igual modo, esta característica se manifestó en la familia Fissurellidae : ***F. barbadensis*** (Lewis, 1960 y Ward, 1966); ***F. maxima*** (Bretos ***et al.,*** 1983); ***F. picta*** (Bretos ***et al.,*** 1988b; Brown ***et al.***, 1997), ***F. limbata*** (Zuñiga, 1991); ***F. latimarginata*** (Brown ***et al.*** 1997; Collado, 1998; Segura, 1998); ***F. cumingi*** (Brown ***et al.,*** 1997; Collado, 1998); ***F. nigra*** (Brown ***et al.***, 1997); ***F. crassa*** (Huaquín, 1998). Por otra parte, la producción de gametos maduros puede encontrarse limitada a estaciones del año constituyendo los patrones estacionales de ciclos reproductivos, con evacuación gonadal en un corto período (una vez al año) como en ***Patella vulgata*** (Orton ***et al.,*** 1956), ***Haliotis midae*** (Newman, 1967), ***Haliotis tuberculata*** (Hayashy, 1980) y ***Collisella heroldi*** (Niu & Fuji, 1989); o con dos períodos reproductivos a través del año como en ***Haliotis midae*** (Newman ***op. cit.***).

Aunque existe la descripción de un período de reposo reproductivo observado desde enero a marzo en la localidad de Montemar (V Región), ésta sólo se basa en el análisis del índice gonadosomático sin presentar evidencias de análisis histológico (Huaquín ***et al.***, 1998). En este contexto y como en la mayoría de los fisurélidos chilenos, en la especie tropical ***F. barbadensis*** no hay reposo gonadal (Lewis, 1960; Ward, 1966). Sin embargo, Webber (1977) señala que en los arqueogastrópodos de zonas templadas existe una fuerte tendencia a presentar un período de reposo gonadal, en que la actividad gametogénica no se expresa de la mejor forma. Sin embargo es posible encontrar un gran número de especies que sí presentan reposo gonadal, por ejemplo, ***H. cracheroidii*** (Boolotian ***et al.***, 1962) y ***Patella vulgata*** (Orton **et al.**, 1956) en los meses de primavera-verano y ***Patella coerulea*** (Bacci, 1947b) y ***Collisella heroldi*** (Niu & Fuji, 1989) en los meses de invierno.

Asimismo el género ***Fissurella*** tiene representantes cuyo patrón de ciclo reproductivo presenta dos períodos de evacuación de gametos, como en la especie tropical ***F. barbadensis***, que se producen desde septiembre hasta noviembre y desde marzo hasta junio (Ward, 1966). Por su parte en los fisurélidos chilenos se describen también dos períodos de gran actividad gametogénica. En relación con la característica actividad reproductiva, en este estudio se observó que dos poblaciones de una misma especie, separadas latitudinalmente, presentan diferencias con respecto a los ciclos reproductivos, específicamente en los períodos de actividad reproductiva, al igual como sucede en bivalvos (Lubet ***et al.***, 1981; Lowe ***et al.***, 1994). Estos acontecimientos también se observan en la especie ***F. maxima*** de la localidad de Huaiquique, que presenta dos períodos de evacuación de gametos, desde noviembre a diciembre y desde julio a agosto (Bretos ***et al.***, 1983). Estos se describen con igual intensidad y duración en la población de hembras de ***F. maxima*** en la I Región (Herrera, 1983[1]). En la misma localidad y también en las hembras se describen dos períodos reproductivos estacionales para ***F. maxima*** desde diciembre hasta mayo y desde junio a noviembre (Pavez & Arias, 1992[2]) . Por otro lado, en una población de ***F. maxima*** de la V Región (Los Vilos), Osorio (1986[3]) ha registrado evacuaciones masivas en mayo, agosto, octubre y febrero. La mayor cantidad de emisiones de gametos fue explicada por la acción del fenómeno El Niño (1983-84), debido al alza en la temperatura y a los cambios en la composición trófica de la columna de agua , que supuestamente estarían favoreciendo la evacuaciones gonadales en la

---

[1] Herrera, G. 1983. Análisis estacional del ciclo sexual en ovario de ***Fissurella maxima*** (Sowerby, 1835). Archaeogastrpoda: Fissurellidae) en el Norte de Chile. Archivos de Biología y Medicina Experimentales. Vol. 16 (2). Página 160. Resumen.

[2] Pavez , M. & T. Arias. 1992. Ciclo estacional de ***Fissurella maxima*** (Sowerby , 1835) (Archaeogastropoda: Fissurellidae) en la zona de Iquique-Chile. Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo. V Reunión Anual, Pichidangui, Chile. Página 13. Resumen.

[3] Osorio, C. 1986. Estudios biológicos en ***Fissurella maxima*** Sowerby 1835 en Chile. X Congreso Latinoamericano de Zoología, Viña del Mar, Chile. Página 498. Resumen.

población, aunque los autores no profundizaron en los mecanismos que lo hicieron posible (Osorio ***et al.***, 1985[1]).

Una población de ***F. nigra*** de la localidad de Queule (VIII Región) evacúa gametos maduros desde octubre a noviembre (primavera) y en marzo (fines de verano) (Bretos ***et al.***, 1988a). Por otra parte, en bahía Metri se determinó que el primer ciclo sexual de esta especie comprende los meses de mayo-diciembre evacuando en noviembre y en marzo-abril (fines de verano y principio de otoño) (Brown ***et al.***, 1997).

En poblaciones de ***F. picta*** de Cheuque (VIII Región) se describieron evacuaciones desde octubre a noviembre (primavera) y desde febrero a marzo (a fines del verano) (Bretos ***et al.***, 1988b), en tanto que la población de bahía Metri lo hizo en septiembre (primavera) y desde diciembre a febrero (verano), además de realizar una emisión menos intensa en julio (invierno) (Brown, ***op. cit.***). En la especie ***F. cumingi*** de caleta Punta Coloso, el mismo autor describe emisión de gametos en mayo, julio (la más intensa), septiembre, noviembre y enero. En la población de Los Vilos, ***F. cumingi*** repite este patrón en septiembre y enero-marzo con un ciclo de menor intensidad y evacuaciones gonadales en mayo y julio (invierno) (Brown, ***op. cit.***). Poblaciones de ***F. pulchra*** del norte del país también presentan dos períodos reproductivos máximos que culminan con la regresión gonadal en diciembre-febrero y mayo-junio (Bretos & Chihuailaf, 1993). Una población de ***F. limbata*** de la IV Región experimenta tres evacuaciones (enero, junio y octubre), posiblemente explicadas por causas derivadas de fenómenos de surgencia producidos en la costa de Fray Jorge (Zúñiga, 1991).

---

[1] Osorio, C. ; S. Avilés & P. Figueroa . 1985. "Efecto del Niño sobre la reproducción de ***Fissurella maxima*** (Mollusca: Gastropoda) en Los Vilos (1983 – 1984). Quintas Jornadas de Ciencias del Mar, Coquimbo, Chile. Página 42. Resumen.

Por su parte, en el norte de Chile existen trabajos que describen diferencias entre los ciclos reproductivos de las poblaciones de ***F. maxima*** de Los Vilos (Osorio ***et al.***, 1985[1], Osorio, 1986[2]) e Iquique (Herrera, 1983[3]; Pávez & Arias, 1992[4]) y donde además se encuentran variaciones sustanciales en los ciclos descritos sólo en esta última localidad (Tabla 1). Complementando la idea, Brown ***et al.*** (1997) y Collado (1998) encontraron diferencias en los períodos de evacuación gonadal en dos poblaciones de ***F. cumingi*** y ***F. latimarginata*** pertenecientes a distintas latitudes. Es necesario señalar que ambos autores trabajaron con las mismas muestras histológicas usadas en este trabajo de tesis y determinaron el ciclo reproductivo según el método histológico que asigna uno de cinco estados histológicos al tejido gonadal. Con respecto a la determinación del ciclo reproductivo de la población de ***F. latimarginata*** de Punta Coloso, los tres trabajos coincidieron en que la evacuación gonadal se producía en noviembre y enero. El presente trabajo señaló además que en marzo se produjo evacuación gonadal, caso que los otros dos estudios no describen, también indica que se produjo evacuación en julio, situación solamente descrita por el trabajo de Brown ***et al.*** (1997). Por su parte Collado (1998) indica que se presentó una emisión de gametos en febrero, la cual no describe Brown ***et al.*** (***op. cit***) ni este estudio. En la determinación del ciclo reproductivo de la población de ***F. latimarginata*** de Los Vilos, los tres trabajos coincidieron en que se produjo evacuación gonadal en julio ; Brown ***et al.*** (***op cit.***) y este estudio indicaron que se

[1] Osorio, C. ; S. Avilés & P. Figueroa . 1985. "Efecto del Niño sobre la reproducción de ***Fissurella maxima*** (Mollusca: Gastropoda) en Los Vilos (1983 – 1984). Quintas Jornadas de Ciencias del Mar, Coquimbo, Chile. Página 42. Resumen.

[2] Osorio, C. 1986. Estudios biológicos en ***Fissurella maxima*** Sowerby 1835 en Chile. X Congreso Latinoamericano de Zoología, Viña del Mar, Chile. Página 498. Resumen.

[3] Herrera, G. 1983. Análisis estacional del ciclo sexual en ovario de ***Fissurella maxima*** (Sowerby, 1835). Archaeogastrpoda: Fissurellidae) en el Norte de Chile. Archivos de Biología y Medicina Experimentales. Vol. 16 (2). Página 160. Resumen.

[4] Pavez , M. & T. Arias. 1992. Ciclo estacional de ***Fissurella maxima*** (Sowerby , 1835) (Archaeogastropoda: Fissurellidae) en la zona de Iquique-Chile. Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo. V Reunión Anual, Pichidangui, Chile. Página 13. Resumen.

presentó evacuación gonadal en marzo; y Brown ***et al.*** (***op. cit***) y Collado (1998) en agosto . En este trabajo además se describió que en enero se habría producido evacuación gonadal, lo cual ninguno de los dos anteriores estudios señala y en relación a los machos, estos presentarían evacuación gonadal en agosto. En resumen, la determinación cuantitativa de los ciclos reproductivos de la población de Punta Coloso coincidió totalmente con la establecida por el método histológico (noviembre, enero, marzo y julio); esto no ocurrió en la población de Los Vilos ya que no se indicó evacuación gonadal en agosto, aunque sí se describió mediante el método histológico utilizado. A pesar de todos estos estudios que muestran cómo existen diferencias latitudinales en los cilos reproductivos de los fisurélidos, se debe mencionar que hay otros trabajos científicos que al situarse en un nivel microgeográfico muestran evidencias de que también se producen variaciones en el desarrollo gametogénico, como en algunos bivalvos (Newell ***et al.***, 1982; Borrero, 1987; Brousseau, 1987) y acméidos (Segal, 1956; Sutherland, 1970). En estos últimos, se vió que la condición reproductiva de poblaciones litorales separadas batimétricamente (por pocos metros) varió en el tiempo, a lo cual se impusieron causas debidas a la disponibilidad de alimento y al grado diferencial de desecación asociado al factor temperatura.

Destacando algunas generalidades de las características de las poblaciones de fisurélidos chilenos estudiadas, se tiene que los ciclos reproductivos con evacuaciones en primavera, verano e invierno son característicos de las especies de fisurélidos pertenecientes al grupo de ***F. maxima***, una de las tres distinciones que establece McLean (1984) para la familia Fissurellinae, conformado por ***F. maxima***, ***F, nigra***, ***F. picta***, ***F. cumingi*** y ***F. latimarginata***. Además, la anterior discusión sobre la temporalidad de los sucesos reproductivos de poblaciones provenientes de distintas

latitudes, vienen a confirmar que la reproducción en los moluscos arqueogastrópodos se encuentra fuertemente ligada a factores exógenos como los moldeadores del ciclo reproductivo.

Tomando en cuenta esta premisa surgen **hipótesis alternativas** factibles de ser probadas a futuro en relación con la acción de los factores exógenos **temperatura** y **alimentación** sobre los ciclos reproductivos de las poblaciones de fisurélidos, específicamente sobre la cinética de la línea germinal.

En el mismo sentido Shepherd & Laws (1974) mencionan que las características ambientales exclusivas del hábitat de las poblaciones de ***Haliotis ruber***, ***H laevigata*** y ***H. cyclobates*** determinaron el comportamiento reproductivo de las mismas, indicando la importancia de los factores temperatura y alimentación en el desarrollo del ciclo sexual. Lo mismo sucedió con el poliplacóforo ***Katharina tunicata*** en el cual la reciprocidad del ciclo de la glándula digestiva, con respecto al de la gónada, determinó a la primera como órgano de reserva nutritiva para la producción de gametos (Lawrence ***et al.***, 1965). Un claro ejemplo de la incidencia del factor alimentación sobre la determinación de un ciclo reproductivo se presenta en el bivalvo de profundidad ***Calyptogena kilmeri***, en el cual la disponibilidad del material particulado establece que el ciclo reproductivo sea de carácter estacional (Lisin ***et al.***, 1997). Otra evidencia de la acción de la alimentación sobre los procesos gametogénicos se ve reflejada en el estudio de una población de ***F. latimarginata*** en la II Región (caleta Errázuriz), en el cual Arroyo ***et al.*** (1991) concluyeron que una dieta monoespecífica de la rodófita ***Chondrus canaliculatus*** producía un aumento en el peso de la gónada traducido en un mayor valor de IGS al ser comparada con otras dietas algales. Si tomamos en cuenta que los fisurélidos se comportan como generalistas tróficos herbívoros (Franz, 1990) y que en este caso se describió la preferencia por un tipo de alga y por ende por su valor calórico y

grado de asimilación, entonces la calidad del alimento redundaría en la capacidad de sobrevivencia, crecimiento y reproducción.

La acción de la temperatura como modelador del ciclo reproductivo de una población se ha registrado en el estudio de tres especies de fisurélidos chilenos (***F. cumingi***, ***F. latimarginata*** y ***F. maxima***) que coexisten en un área reducida de la localidad de Quintay (V Región). Estas tres especies aparentemente experimentaron al mismo tiempo la mayor evacuación de gametos en junio de 1997, como consecuencia de la acción del fenómemo El Niño. La acción de la temperatura como factor exógeno, actuando sobre la madurez de las gónadas de fisurélidos, se percibió al constatar la gran cantidad de grados celsius acumulados entre una emisión gamética y el momento en que las poblaciones alcanzaron la madurez máxima (1200 °C - días) (Bonati ***et al.***, 1999[3]).

---

[1] Osorio, C. 1986. Estudios biológicos en ***Fissurella maxima*** Sowerby 1835 en Chile. X Congreso Latinoamericano de Zoología, Viña del Mar, Chile. Página 498. Resumen.

[2] Osorio, C. ; S. Avilés & P. Figueroa . 1985. "Efecto del Niño sobre la reproducción de ***Fissurella maxima*** (Mollusca: Gastropoda) en Los Vilos (1983 – 1984). Quintas Jornadas de Ciencias del Mar, Coquimbo, Chile. Página 42. Resumen.

[3] Bonati, P.; Vega, G.; Figueroa, M. & H. Perez. 1999. Análisis del ciclo reproductivo de ***Fissurella*** spp. en Quintay (V región), y su potencial aplicación en acuicultura. XIX Congreso de Ciencias del Mar, Antofagasta, Chile. Página 74. Resumen.

CONCLUSIONES

1 El patrón del ciclo reproductivo cualitativo está expresado en la cinética de la línea germinal determinada mediante el análisis cuantitativo.

2 El análisis histológico cuantitativo de la línea germinal masculina y femenina establece que la población de ***Fissurella latimarginata*** de la localidad de Punta Coloso presenta un ciclo reproductivo continuo asincrónico sin un período de reposo gonadal y con dos períodos reproductivos (agosto-marzo y abril-julio). El primer período presenta una principal evacuación gonadal en noviembre y otra de menor intensidad en enero y marzo. El segundo presenta una evacuación gonadal en julio.

3 La población de Los Vilos presenta un ciclo reproductivo continuo asincrónico sin período de reposo gonadal y con dos períodos reproductivos (agosto-marzo y abril-julio). La principal evacuación gonadal se produce en julio, ocurriendo otras de menor intensidad en enero y marzo.

4 En ambas poblaciones existen diferencias temporales significativas en la altura de la línea germinal masculina (LGT y LGA) .

5 Las diferencias espaciales significativas de la línea germinal masculina se deben a la menor altura de LGT que presenta la población de Punta Coloso con respecto a Los Vilos. La LGA no presentó variaciones espaciales.

6 El estadístico G indicó que existen variaciones en el desarrollo de la línea germinal masculina y femenina a través del tiempo.

7 Los residuos estandarizados explicaron la dinámica de la línea germinal masculina y femenina y permitieron establecer que el ciclo reproductivo es continuo.

8 Los OPV y OVL no presentaron diferencias espaciales significativas, en cambio sí los OVA debido posiblemente a diferencias en el número de células por área. Por lo tanto, el recuento de OVA debe ser perfeccionado en el futuro como consecuencia de su baja representación en los conteos mensuales.

9 Se recomienda la incorporación sistemática del análisis cuantitativo en los estudios de carácter reproductivo.

10 La acción de la temperatura y de la alimentación sobre los ciclos reproductivos de los fisurélidos chilenos, específicamente en la cinética de la gametogénesis, constituyen nuevas hipótesis de trabajo factibles de probar en posteriores estudios.

LITERATURA CITADA

Acuña, E. 1977. Estudio preliminar de edad y crecimiento de ***Fissurella latimarginata*** (Sowerby, 1834) en Tocopilla, Chile (MOLLUSCA, GASTROPODA, FISSURELLIDAE). Revista de Biología Marina, Valparaíso. 16 (2): 117-124.

Arrau, J, E. Bustos, G Hoecker & A Ramos. 1981. Biología de la Reproducción Animal. 170p. Editorial Andrés Bello.

Arroyo, J P, M E Ramos & S A Ubillo. 1991. Estudios preliminares de la influencia de la dieta en el crecimiento y maduración de ***F. latimarginata*** Sowerby, 1835, en Caleta Errázuriz y gestiones preliminares de cultivo. Seminario para optar al título de Ingeniero de Ejecución en Acuicultura. 107 p. Departamento de Acuicultura, Universidad de Antofagasta.

Bacci, G. 1947a. Osservazioni sulla sessualità degli Archaeogastropoda. Archivio Zoologico Italiano 32: 328-341.

Bacci, G. 1947b. L' inversione del sesso ed il ciclo stagionale della gonade in ***Patella coerulea*** L. Pubblicazione della Stazione Zoologica di Napoli 21: 185-217.

Bayne, B L, D L Holland, M N Moore, D M Lowe & J Widdows. 1978. Further studies on the effects of stress in the adult on the eggs of ***Mytilus edulis***. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 58: 825-841.

Bayne, B L, P N Salkeld & C M Worral. 1983. Reproductive effort and value in different populations of the marine mussel, ***Mytilus edulis*** L. Oecologia 59: 18-26.

Blackmore, D. T. 1972. Studies of ***Patella vulgata*** L.. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 3: 200-213.

Blankley, W. & G. Branch. 1985. Ecology of the limpet ***Nacella delesserti*** (Philippi) at Marion Island in the Sub-Antarctic Southern Ocean. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 92: 259-281.

Boolotian, R., A. Farmanfarmaian & A. Giese. 1962. On the reproductive cycle and breeding habits of two western species of ***Haliotis***. The Biological Bulletin 122 (2): 183-193.

Borrero, F. 1987. Tidal height and gametogenesis: reproductive variation among populations of ***Geukensia demissa***. The Biological Bulletin 173 (1): 160-168.

Boutan, L. 1885. Recherches sur l'anatomie et le développement de la ***Fissurelle***. Archives de zoologie expérimentale et générale 3 (4): 1-173.

Bretos, M. 1979. Observaciones sobre ***Fissurella bridgesii*** Reeve 1849, en Tarapacá, Norte de Chile. Ciencia y Tecnología del Mar, CONA 4: 53-60.

Bretos, M. 1982. Biología de ***Fissurella maxima*** Sowerby (MOLLUSCA: ARCHAEOGASTROPODA) en el Norte de Chile. 1. Caracteres generales, edad y crecimiento. Cahiers de Biologie Marine 13: 159-170.

Bretos, M., I. Tesorieri & L. Alvarez. 1983. The Biology of ***Fissurella maxima*** Sowerby (MOLLUSCA: ARCHAEOGASTROPDA) in Northern Chile. 2. Notes on its reproduction. The Biological Bulletin 165: 559-568.

Bretos, M. I., Quintana & V. Ibarriola. 1988a. Bases biológicas para el manejo de ***Fissurella nigra***. Medio Ambiente 9 (1): 55-62.

Bretos, M., Gutiérrez, J. & Z. Espinoza. 1988b. Estudios biológicos para el manejo de ***Fissurella picta***. Medio Ambiente 9 (1): 28-34.

Bretos, M. & R. Chihuailaf. 1990. Biometría y otros aspectos biológicos de ***Fissurella pulchra*** (MOLLUSCA : PROSOBRANCHIA). Revista de Biología Marina, Valparaíso, 25 (1): 1-14.

Bretos, M. & R. Chihuailaf. 1993. Studies on the reproduction and gonadal parasites of ***Fissurella pulchra*** (GASTROPODA: PROSOBRANCHIA). The Veliger 36 (3): 245-251.

Briarty, L. G. 1975. Stereology: methods for quantitative light and electron microscopy. Science Progress, Oxford 62: 1-32.

Brousseau, D. J. 1983. Aspects of reproduction of the blue mussel ***Mytilus edulis*** (PELECYPODA: MYTILIDAE) in Long Island Sound. Fishery Bulletin 81(4): 733-739.

Brousseau, D. J. 1987. A comparative study of the reproductive cycle of the soft-shell clam, ***Mya arenaria*** in Long Island Sound. Journal of Shellfish Research 6(1): 7-15.

Brown, D., M. González, D. López & L. Durán. 1997. Estudios de los ciclos vitales de las especies comerciales de lapas del género ***Fissurella*** en las regiones I a X. Informe Final Proyecto FIP 94-33.

Bustamante , R. L & J C Castilla. 1987. The shellfishery in Chile: An analysis of 26 years of landings (1960-1985). Biología Pesquera 16: 559-568.

Chan, S. & W. O. 1981. Environmental and non-genetic mechanism in sex determination. En: C. R. Austin & R. G. Edwards (eds), Mechanism of Sex Differenciation in Animals and Man. Pp 55-112. Academic Press.

Christiansen, H. E., M. E. Cabrera & S. R. Brodsky. 1972. Posibilidades de aplicación de una técnica estereométrica en la determinación de la fecundidad y en los cálculos de los procesos de reabsorción ovocitaria en invertebrados marinos. Anales de la Sociedad Científica Argentina 194: 279-298.

Christiansen, H. E., S. R. Brodsky & M. E. Cabrera. 1973. Aplicación de una técnica histométrica en la determinación de la fecundidad en invertebrados marinos. Physis A Buenos Aires 32(84): 121-135.

Collado, G. 1998. Aspectos de la sexualidad como propiedades biológicas de diferenciación en dos especies de ***Fissurella*** BRUGIÈRE,1789. Tesis para optar al Grado de Licenciado en Biología Marina, Instituto de Oceanología, Universidad de Valparaíso, 85 p.

Di Bacco, C., G. Robert & J. Grant. 1995. Reproductive cycle of the sea scallop, ***Placopecten magellanicus*** (Gmelin, 1791), of Northeastern Georges Bank. Journal of Shellfish Research 14(1): 59-69.

Die, D. J., J. G. Mcgilvray, A. J. Courtney & M. G. Cosgrove. 1995. A quantitative method for staging penaeid prawn ovaries using image analysis. Invertebrate Reproduction and Development 28 (3): 177-183.

Franz, C. 1990. Differential algal consumption by three species of ***Fissurella*** (MOLLUSCA : ARCHAEOGASTROPODA) at Isla de Margarita, Venezuela. Bulletin of Marine Science 46(3): 735-748.

Fretter, V. 1946. The genital ducts of ***Theodoxus***, ***Lamellaria*** and ***Trivia*** and a discussion on their evolution in the prosobranchs. Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom 26: 312-351.

Fretter, V. 1984. Prosobranchs. En: Tompa A. S., N. H. Verdonk & J. A van den Biggelaar (eds.), The Mollusca (7), Reproduction: 1-45. McGraw-Hill, Inc. USA.

George-Nascimento, M. & G. Quiroga 1983. Descripción de un nueva especie de tremátodo, ***Proctoeces humboldti*** n. sp. (DIGENEA: FELLODISTOMIDAE), parásito en las lapas ***Fissurella*** spp. Brugiere, 1789 (MOLLUSCA: ARCHAEOGASTROPODA). Parasitología al Día (Chile) 7: 100-103

Giese, A. C. 1959. Comparative Physiology: annual reproductive cycles of marine invertebrates. Annual Review of Physiology 21: 547-576.

Giese, A. C. & J. S. Pearse. 1974. General principles. En A. C. Giese & J. S. Pearse (eds), Reproduction of Marine Invertebrates. Vol 1: 1-49. Academic Press: New York.

Giese, A.C. & H. Kanatani. 1987. Maturation and Spawning . En: A. C. Giese & J.S. Pearse (eds.), Reproduction of Marine Invertebrates. Vol IX. The Boxwood Press. California.

Giguere, M., G. Cliche & S. Brulotte. 1994. Reproduction cycles of the sea scallop, ***Placopecten magellanicus*** (Gmelin), and the Iceland scallop, ***Chlamys islandica*** (O. F. Muller), in îles-de-la-Madelaine, Canada. Journal of Shellfish Research 13(1): 31-36.

Giorgi, A. & D. DeMartini. 1977. A study of the reproductive biology of the red abalone, ***Haliotis rufescens*** Swaison, near Mendocino, California. California Fish and Game 63(2): 80-94.

Girard, A. 1972. La reproduction de l'ormeau ***Haliotis tuberculata*** L. Revue des Travaux de L'Institut des Pèches Maritimes 36(2): 163-184.

Grant, A. & P. A. Tyler. 1983a. The analysis of data in studies of invertebrate reproduction. I. Introduction and statistical analysis of gonad indices and maturity indices. International Journal of Invertebrate Reproduction 6: 259-269.

Grant, A. & P. A. Tyler. 1983b. The analysis of data in studies of invertebrate reproduction. II. The analysis of oocyte size/frecuency data, and comparison of different types of data. International Journal of Invertebrate Reproduction 6: 271-283.

Hayashy, I. 1980. The reproductive biology of the ormer, ***Haliotis tuberculata***. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 60: 415-430.

Healy, J. 1989. Ultrastructure of espermiogenesis in the gastropod ***Calliotropis glytus*** Watson (PROSOBRANCHIA: TROCHIDAE), with special reference to the embebdded acrosome. Gamete Research 24: 9-20.

Heffernan, P. B. & R. L. Walker. 1989 a. Quantitative image analysis methods for use in histological studies of bivalve reproduction. Journal of Molluscan Studies 55: 135-137.

Heffernan, P. B. & R. L. Walker. 1989 b. Gametogenic cycles of three bivalves in Warsaw Sound, Georga: III. ***Geukensia demissa***. Journal of Shellfish Research 8: 327-334

Heffernan, P. B., R. L. Walker & J. L. Carr. 1989 c. Gametogenic cycles of three bivalves in Warsaw Sound, Georga: I. ***Mercenaria mercenaria***. Journal of Shellfish Research 8: 51-60

Heffernan, P. B., R. L. Walker & J. L. Carr. 1989 d. Gametogenic cycles of three bivalves in Warsaw Sound, Georga: ***Crassostrea virginica***. Journal of Shellfish Research 8: 61-70.

Himmelman, J. H. 1975. Phytoplankton as a stimulus for spawning in three marine invertebrates. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 20: 190-214.

Himmelman, J.H. 1978. The reproductive cycle of ***Katharina tunicata*** Wood and its controlling factors. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 31: 27- 41.

Huaquín, L.; Guerra, R. & M. Bretos. 1998. Identificación del sexo y morfología de gametos de la lapa ***Fissurella crassa*** Lamarck, 1822 (MOLLUSCA : ARCHAEOGASTROPODA). Revista de Biología Marina y Oceanografía 33 (2): 223 - 229.

Jaramillo, R. & J. Navarro 1995. Reproductive cycle of the chilean ribbed mussel ***Aulacomya ater*** (*Molina, 1782*). Journal of Shellfish Research 14(1): 165-171.

Joll, L. 1980. Reproductive biology of species of Turbinidae (MOLLUSCA: GASTROPODA). Australian Journal of Marine and Freshwater Research 31: 319-336.

Kautsky, N. 1982. Quantitative studies in gonad cycle, fecundity, reproductive output and recruitment in a Baltic ***Mytilus edulis*** population. Marine Biology 68: 143-160.

Keck, R. T., D. Maurer & H. Lind. 1975. A comparative study of the hard clam gonad developmental cycle. The Biological Bulletin 148: 243-258.

Lawrence, A. L., J. M. Lawrence & A. C. Giese. 1965. Cyclic variations in the digestive gland and glandular oviduct of chitons (molluscs). Science 147: 508-510.

Lewis, J. 1960. The fauna of rocky shores of Barbados, West Indies. Canadian Journal of Zoology 38: 391-435.

Lisin, S. E., E. E. Hannan, R. E. Kochevar, C. Harrold & J. P. Barry. 1997. Temporal variation in gametogenic cycles of vesicomid clams. Invertebrate Reproduction and Development 31(1-3): 307-318.

Loosanoff, V.L. 1945. Precocious gonad development in oysters induced in midwinter by high temperature. Science 102 (2640): 124- 125.

Loosanoff, V.L. & H.C. Davis.1950. Conditioning ***V. mercenaria*** for spawning in winter and breeding its larvae in the laboratory. The Biological Bulletin 98: 60-65.

Loosanoff, V.L. & H.C. Davis. 1952. Temperature requirements for maturation of gonads of northern oysters. The Biological Bulletin 103: 80- 96

Loosanoff, V. 1965. Gonad development and discharge of spawn in oysters of Long Island Sound. The Biological Bulletin 129: 546-561.

López, M., C. Leyton & M. Graf. 1982. Técnicas de Histología y Citología. Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Santiago, 242 p.

Lowe, D. M., M. N. Moore & B. L. Bayne. 1994. The effect of geographical location on the cellular composition of the mantle tissue of the mussel ***Mytilus edulis*** L. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 74: 225-232.

Lozada, E. & H. Bustos. 1984. Madurez sexual y fecundidad de ***Venus antiqua antiqua*** King & Broderip, 1835 en la bahía de Ancud (MOLLUSCA: BIVALVIA: VENERIDAE). Revista de Biología Marina, Valparaíso 20(2): 91-112.

Lubet, P., J. P. Gimazane & G. Prunus. 1981. Etude du cycle de reproduction de ***Mytilus galloprovincialis*** (Lmk) (Moll. Lamellibranche) a la limite meridionale de son aire de repartition. Comparison avec les autres secteurs de cette aire. Haliotis 11: 157-170.

Lucas, A. 1982. Evaluation of reproductive effort in bivalve molluscs. Malacologia 22(1-2): 183-187.

MacDonald, B. A. & R. J. Thompson. 1988. Intraspecific variation in growth and reproduction of latitudinally differentiated populations of the giant scallop ***Placopecten magellanicus*** (Gmelin). The Biological Bulletin 175: 361-371.

Mann, R.1979. The effect of temperature on growth, physiology and gametogenesis in the Manila clam ***Tapes philippinarum*** (Adams & Reeve, 1850). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 38: 121- 133.

McLean, J.H. 1984. Systematics of ***Fissurella*** in the Peruvian and Magellanic faunal Provinces (GASTROPODA: PROSOBRANCHIA). Natural History Museum of Los Angeles county. Contribution in Science, 354: 1-70.

Morvan , C. & A. D. Ansell. 1988. Stereological methods applied to the reproductive cycle of ***Tapes rhomboides***. Marine Biology 97: 355-364.

Newell, R. I. E., T. J. Hilbish, R. K. Koehn & C. Newell. 1982. Temporal variation in the reproductive cycle of ***Mytilus edulis*** L. (BIVALVIA: MYTILIDAE) from localities on the east coast of the United States. The Biological Bulletin 162: 299:310.

Newman, G. 1967. Reproduction of the South African abalone ***Haliotis midae***. Investigational Report, Division of Fisheries, South Africa 64: 1-24.

Nimitz, M.A. & A. C. Giese. 1964. Histochemical changes correlated with reproductive activity and nutrition in the chiton, ***Katharina tunicata***. Quart. J. micr. Sci. 105: 481- 495.

Niu, C. & A. Fuji. 1989. Gametogenesis and reproductive cycle of the limpet ***Collisella heroldi*** (Dunker, 1861). Bulletin of the Faculty of Fisheries, Hokkaido 40 (4): 214-227.

Oliva, D. & J. C. Castilla. 1986. The effect of human exclusion on the population structure of keyhole limpets ***Fissurella crassa*** and ***F. limbata*** on the coast of Central Chile. Marine Ecology 7(3): 201-207.

Oliva, D & J. Castilla. 1990. La pesquería artesanal de lapas del género ***Fissurella*** en dos caletas de Chile Central. En: Barbieri (ed). Perspectivas de la actividad pesquera en Chile. 179-193 p. Editorial Universitaria.

Oliva, D. & J. Castilla. 1992. Guía para el reconocimiento y morfometría de diez especies del género ***Fissurella*** Brugière, 1789 (MOLLUSCA: GASTROPODA) comunes en la pesquería y conchales indígenas de Chile Central y Sur. Gayana, Zoología 56 (3-4): 77-108.

Oliva, D & J. Garrido. 1994. The impact of artisanal fishermen "management areas" on the key-hole limpet fishery in Central Chile. Proceedings Coastal Zone 1994: 1661-1682.

Oliva, M. 1992. Parasitic castration in ***Fissurella crassa*** (ARCHAEOGASTROPODA) due to an adult DIGENEA, ***Proctoeces lintoni*** (FELLODISTOMIDAE). Memorias del Instituto Oswaldo Cruz, Río de Janeiro 87(1): 37-42.

Olive, P. J. W. 1971. Ovary structure and oogenesis in ***Harmothoe imbricata***. Marine Biology 8: 243-259.

Olive, P. J. W. 1980. Control of the reproductive cycle in female ***Eulalia viridis*** (POLYCHAETA: PHYLLODOCIDAE). Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 61: 941-958.

Orton, J.H. 1920. Sea temperature, breeding and distribution of marine animals. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 12: 339- 366.

Orton, J., A. Southward & J. Dodd. 1956. Studies on the biology of limpets. II. The breeding of ***Patella vulgata*** L. in Britain. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 35: 149-176.

Osorio, C., M. E. Ramírez & J. Salgado. 1988. Gastric contents of ***Fissurella maxima*** (MOLLUSCA: ARCHAEOGASTROPODA) at Los Vilos, Chile. The Veliger 30(4): 346-350.

Picken, G. & D. Allan. 1983. Unique spawning behavior by the antarctic limpet ***Nacella (Patinigera) concinna*** (Strebel, 1908). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 71: 283-287.

Pino, C., D. Oliva & J. C. Castilla. 1994. Ritmos de actividad en las lapas ***Fissurella crassa*** LAMARCK 1822 y ***F. latimarginata*** SOWERBY 1835: Efectos del ciclo de marea y fotoperíodo. Revista de Biología Marina, Valparaíso 29(1): 89-99.

Poore, G. 1970. Ecology of New Zealand abalones, ***Haliotis*** species (MOLLUSCA: GASTROPODA). New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research 7 (1-2): 67-84.

Purchon, R. 1968. Reproduction. En: The Biology of Mollusca: 269-332. Pergamon Press, Oxford.

Raven, C. P. 1961. Oogenesis: The storage of development information: 14 - 75. Pergamon. New York.

Roosen- Rungue, E.C. 1977. The process of spermatogenesis in animals. 213p. Cambridge University Press, Massachussets.

Rowell, T. W., D. R. Chaisson & J. T. McLane. 1990. Size and age of sexual maturity and annual gametogenic cycle in the ocean quahog, ***Arctica islandica*** (Linnaeus, 1767) from coastal waters in Nova Scotia, Canada. Journal of Shellfish Research 9(1): 195-203.

Sastry, A.N. 1963. Reproduction of the bay scallop, ***Aequipecten irradians*** Lamarck. Influence of temperature on maturation and spawning. The Biological Bulletin 125: 146- 153.

Sastry, A.N. 1966. Temperature effects in reproduction of the bay scallop, ***Aequipecten irradians*** Lamarck. The Biological Bulletin 130: 118- 134.

Sastry, A.N. 1970. Reproductive biological variation in latitudinally separated populations of the bay scallop, ***Aequipecten irradians*** Lamarck. The Biological Bulletin 138: 56- 65.

Sastry, A.N. 1971. Regulation of gonad development in the bay scallop, ***Aequipecten irradians*** Lamarck. The Biological Bulletin 140: 274- 283.

Sastry, A. N. 1979. Pelecypoda (excluding Ostreidae). En: A. C. Giese & J. S. Pearse (eds.), Reproduction of Marine Invertebrates. Vol 5: 113-292. Academic Press, New York.

Schroeder, P.C. 1987. Endogenous control of gametogenesis. En: A.C. Giese, J.S. Pearse & V.B. Pearse (eds.), Reproduction of Marine Invertebrates. 9. The Boxwood Press. California.

Schuldt, M. 1990. Application of diversity relations to the study of sexual cycles in invertebrates. Biota, Osorno Chile 6: 1-17.

Segal, 1956. Microgeographic variation as thermal acclimation in an intertidal mollusc. The Biological Bulletin 11: 129-152.

Segura, C. A. 1998. Evaluación de la función gonadal de ***Fissurella latimarginata*** (Sowerby, 1835) de Caleta Coloso, Antofagasta. Seminario para optar al título de Ingeniero en Acuicultura. Departamento de Acuicultura, Universidad de Antofagasta. 70 p.

Shepherd, S.A. 1973. Studies on Southern Australian abalone (Genus ***Haliotis***) I. Ecology of five sympatric species. Australian Journal of Marine and Freshwater Research 24 (3): 217- 257.

Shepherd, S.A. & H.M. Laws. 1974. Studies on Southern Australian abalone (Genus ***Haliotis***) II. Reproduction of five species. Australian Journal of Marine and Freshwater Research 25: 49-62.

Sokal, R. & F. Rohlf. 1995. Biometry. The principles and practice of statistics in biological research. Third Edition. 887 p W. Freeman & Company, New York.

Starr, M., J. H. Himmelman & J. C. Therriault. 1990. Direct coupling of marine invertebrate spawning with phytoplankton blooms. Science 247: 1071- 1074.

Steel, R. G. D. & J. H. Torrie. 1988. Biestadística: principios y procedimientos. 2° edición. 622 p. McGraw-Hill. México.

Sutherland, H. 1970. Dynamics of high and low populations of the limpet ***Acmaea scabra*** (Gould). Ecological Monograph 40: 169-188.

Tutschulte, T. & J. H. Connell. 1981 . Reproductive biology of three species of abalones (***Haliotis***) in southern California. The Veliger 23 (3): 195-206.

Trueman, E.R. & M.R. Clarke. 1985. Outline classification of Mollusca. En: E.R. Trueman & M.R. Clarke (eds.). The Mollusca, 9, Academic Press.

Tyler, P. A., A. Grant, S. L. Pain & J. D. Gage. 1982. Is annual reproduction in deep sea echinoderms a response to variability in their environment? Nature (London), 300: 747-750.

Tyler, P. A., D. S. M. Billet & J. D. Gage. 1990. Seasonal reproduction in the seastar ***Dytaster grandis*** from 4.000 m in the north-east Atlantic Ocean. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 70: 173-180.

Underwood, A. J. 1972. Spawning, larval development and settlement behaviour of ***Gibbula cineraria*** (GASTROPODA: PROSOBRANCHIA) with a reappraisal of torsion in gastropods. Marine Biology 17: 341-349

Ward, J. 1966. The breeding of the keyhole limpet ***Fissurella barbadensis*** Gmelin. Bulletin of Marine Science 16 (4): 685-695

Webber, H. H. 1970. Changes in metabolite composition during the reproductive cycle of the abalone ***H. cracheroidii*** (GASTROPODA: PROSOBRANCHIA). Physiological Zoology 43(3): 213-231.

Webber, H. H. 1977. GASTROPODA: PROSOBRANCHIA. Pp 1 -114. En: A.C. Giese & J.S. Pearse (eds.). Reproduction of Marine Invertebrates IV. Academic Press. New York

Webber,H. H. & A.C. Giese. 1969: Reproductive cycle and gametogenesis in the black abalone ***Haliotis cracheroidii*** (GASTROPODA: PROSOBRANCHIA). Marine Biology 4: 152- 159

Weibel, E. R. 1979. Stereological methods. Vol. 1: Practical methods for biological morphometry. 415 p. Academic Press. London.

Wourms, J. P. 1987. Oogenesis. Pp 50 -157. En: A.C. Giese, J.S. Pearse & V.B. Pearse. Reproduction of Marine Invertebrates. Vol. IX. The Boxwood Press. California

Young, J. S. & J. D. DeMartini. 1970. The reproductive cycle, gonad histology and gametogenesis of the red abalone, ***Haliotis rufescens*** (Swainson). California Fish and Game 56(4): 298- 309.

Zúñiga, J. 1991. Ciclo reproductivo, talla de primera madurez sexual y parasitosis de ***Fissurella limbata*** Sowerby 1835 en Fray Jorge (MOLLUSCA: ARCHAEOGASTROPODA: FISSURELLIDAE). Tesis para obtener el Grado de Licenciado en Ciencias del Mar. Departamento de Biología Marina, Universidad Católica del Norte, Coquimbo. 74 p.

ABREVIATURAS

D1 : Estado cualitativo de madurez inicial de la gónada

D2 : Estado cualitativo de madurez avanzada de la gónada

D3 : Estado cualitativo de madurez total de la gónada

G : Estadístico G (distribuído χ^2) calculado mediante la tabla de contingencia R X C y usado para determinar el grado de desarrolo gonadal en la actividad reproductiva anual de machos y hembras.

IGS : Índice Gonadosomático

$$IGS = \frac{\text{Peso húmedo de la gónada}}{\text{Peso húmedo total de las partes blandas}} \times 100$$

MSD : Mínima diferencia significativa entre los promedios mensuales de la altura de la línea germinal y del número de ovocitos.

OPV : Ovocitos previtelogénicos

OVA : Ovocitos vitelogénicos aheridos

OVL : Ovocitos vitelogénicos libres

R1 : Estado cualitativo de evacuación parcial de la gónada

R2 : Estado cualitativo de evacuación total de la gónada

T´ : Prueba *T´* (***a posteriori***) usada para probar diferencias entre los promedios mensuales de la línea germinal de machos y hembras.

TABLAS

TABLA 1. Patrones de ciclo reproductivo, según diferentes autores, de algunas especies del género ***Fissurella*** (modificado de Collado, 1998).

ESPECIE	LUGAR ESTUDIO	MESES												METODO ESTUDIO	FUENTE
		E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D		
F. barbadensis	Barbados			x	x	x	x			x	x	x		H	Lewis, 1960; Ward, 1966
F. crassa	Montemar									x			x	IGS	Huaquin *et al.*, 1998
F. cumingi	Punta Coloso			x				x		x	x	x		H	Brown *et al.*, 1997
						x		x						H	Collado, 1998
	Los Vilos	x		x				x		x				H	Brown *et al.*, 1997
		x	x	x						x				H	Collado, 1998
F. latimarginata	Punta Coloso	x						x				x		H	Brown *et al.*, 1997
		x	x									x		H	Collado, 1998
		x		x								x		IGS	Presente estudio
		x		x				x				x		H	
		x		x				x				x		Q	
	Los Vilos			x				x	x					H	Brown *et al.*, 1997
								x	x					H	Collado, 1998
				x				x					x	IGS	Presente estudio
		x		x				x						H	
		x		x				x						Q	
F. limbata	Fray Jorge	x					x				x			H	Zúñiga, 1991
F. maxima	Iquique						x		x			x	x	IGS	Bretos *et al.*, 1983
	Norte Chile					x						x		H	Herrera, 1983*
	Iquique			x	x	x	?	?	?	?	x	x		H	Pavez & Arias., 1992**
	Los Vilos		x			x			x		x			IGS	Osorio *et al.*, 1985°; Osorio, 1986°°

F. nigra	Queule		x	x	x				x	x	x			IGS	Bretos ***et al.,*** 1988a
	Metri			x	x				?			x	?	H, IGS	Brown ***et al***., 1997
F. nubecula	Naples Port	?	?	?	?	x	?	?	?	?	?	?	?	?	Bacci, 1947a
F. picta	Cheuque		x	x							x	x		IGS	Bretos ***et al.,*** 1988b
	Metri	x	x							x			x	H, IGS	Brown ***et al.,*** 1997
F. pulchra	Iquique	x	x			x	x						x	IGS	Bretos & Chihuailaf, 1993
F. reticulata	Port Vendres	?	?	?	?	x	x	x	?	?	?	?	?	OD	Boutan, 1885

Simbología: ? = No hay información; H = Histología; IGS = Indice gonadosomático; Q = Método cuantitativo; OD = Observación directa de evacuación en acuarios; X = Período de activa evacuación de gametos; Línea gruesa= Indica presencia de individuos sexualmente maduros.

---

* Herrera, G. 1983. Análisis estacional del ciclo sexual en ovario de ***Fissurella maxima*** en el Norte de Chile. Archivos de Biología y Medicina Experimentales 16 (2): 160. Resumen.

** Pavez, M. & T. Arias. 1992. Ciclo Estacional de ***Fissurella maxima*** (Sowerby, 1835) (Archaeogastropoda: Fissurellidae) en la zona de Iquique-Chile. Sociedad Chilena de Reproducción y Desarrollo. V Reunión Anual, Pichidangui. Resumen: 13.

° Osorio, C.; S. Avilés & P. Figueroa. 1985. "Efecto del Niño sobre la reproducción de ***Fissurella maxima*** (Mollusca: Gastropoda)" en Los Vilos (1983-1984). V Jornadas de Ciencias del Mar, Coquimbo, Chile.Resumen: 42.

°° Osorio, C. 1986. Estudios biológicos en ***Fissurella maxima*** Sowerby 1835 en Chile. X Congreso Latinoamericano de Zoología, Viña del Mar, Chile. Resumen: 498.

TABLA 2. Distribución mensual de la frecuencia (%) de estados gonadales en ***Fissurella latimarginata***. Punta Coloso. Machos.

MES	ESTADOS GONADALES										
	D1		D2		D3		R1		R2		TOTAL
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%	N
A	0	0.0	2	20.0	4	40.0	2	20.0	2	20.0	10
S	0	0.0	0	0.0	9	69.2	4	30.8	0	0.0	13
O	0	0.0	6	30.0	5	25.0	9	45.0	0	0.0	20
N	1	7.1	3	21.4	0	0.0	1	7.1	9	64.3	14
D	0	0.0	1	5.0	19	95.0	0	0.0	0	0.0	20
E	1	5.9	2	11.8	4	23.5	6	35.3	4	23.5	17
F	5	25.0	7	35.0	6	30.0	1	5.0	1	5.0	20
M	13	81.3	1	6.3	0	0.0	1	6.3	1	6.3	16
A	0	0.0	2	12.5	4	25.0	9	56.3	1	6.3	16
M	0	0.0	0	0.0	6	37.5	8	50.0	2	12.5	16
J	0	0.0	0	0.0	13	76.5	4	23.5	0	0.0	17
J	6	42.9	1	7.1	0	0.0	2	14.3	5	35.7	14
TOTAL	26		25		70		47		25		193

TABLA 3. Distribución mensual de la frecuencia (%) de estados gonadales en ***Fissurella latimarginata***. Punta Coloso. Hembras.

MES	ESTADOS GONADALES										
	D1		D2		D3		R1		R2		TOTAL
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%	N
A	1	4.5	6	27.3	14	63.6	1	4.5	0	0.0	22
S	0	0.0	2	11.8	15	88.2	0	0.0	0	0.0	17
O	1	11.1	1	11.1	7	77.8	0	0.0	0	0.0	9
N	0	0.0	9	56.3	1	6.3	3	18.8	3	18.8	16
D	0	0.0	0	0.0	9	100.0	0	0.0	0	0.0	9
E	0	0.0	0	0.0	7	58.3	5	41.7	0	0.0	12
F	0	0.0	0	0.0	6	42.9	8	57.1	0	0.0	14
M	5	35.7	8	57.1	1	7.1	0	0.0	0	0.0	14
A	3	23.1	1	7.7	4	30.8	5	38.5	0	0.0	13
M	3	21.4	1	7.1	6	42.9	4	28.6	0	0.0	14
J	0	0.0	0	0.0	12	92.3	1	7.7	0	0.0	13
J	3	18.8	10	62.5	0	0.0	3	18.8	0	0.0	16
TOTAL	16		38		82		30		3		169

TABLA 4. Distribución mensual de la frecuencia (%) de estados gonadales en ***Fissurella latimarginata***. Punta Coloso. Total poblacional.

MES	ESTADOS GONADALES										
	D1		D2		D3		R1		R2		TOTAL
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%	N
A	1	3.1	8	25.0	18	56.3	3	9.4	2	6.2	32
S	0	0.0	2	6.7	24	80.0	4	13.3	0	0.0	30
O	1	3.5	7	24.1	12	41.4	9	31.0	0	0.0	29
N	1	3.3	12	40.0	1	3.3	4	13.4	12	40.0	30
D	0	0.0	1	3.5	28	96.5	0	0.0	0	0.0	29
E	1	3.5	2	6.9	11	37.9	11	37.9	4	13.8	29
F	5	14.7	7	20.6	12	35.3	9	26.5	1	2.9	34
M	18	60.1	9	30.0	1	3.3	1	3.3	1	3.3	30
A	3	10.3	3	10.3	8	27.6	14	48.3	1	3.5	29
M	3	10.0	1	3.3	12	40.0	12	40.0	2	6.7	30
J	0	0.0	0	0.0	25	83.3	5	16.7	0	0.0	30
J	9	30.0	11	36.6	0	0.0	5	16.7	5	16.7	30
TOTAL	42		63		152		77		28		362

TABLA 5. Distribución mensual de la frecuencia (%) de estados gonadales en ***Fissurella latimarginata***. Los Vilos. Machos.

MES	ESTADOS GONADALES										
	D1		D2		D3		R1		R2		TOTAL
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%	N
A	3	17.6	3	17.6	5	29.4	2	11.8	4	23.5	17
S	1	5.9	1	5.9	5	29.4	9	52.9	1	5.9	17
O	1	6.3	1	6.3	8	50.0	5	31.3	1	6.3	16
N	0	0.0	1	5.9	11	64.7	4	23.5	1	5.9	17
D	0	0.0	1	7.7	3	23.1	9	69.2	0	0.0	13
E	0	0.0	0	0.0	0	0.0	8	80.0	2	20.0	10
F	2	11.8	1	5.9	11	64.7	2	11.8	1	5.9	17
M	3	27.3	3	27.3	0	0.0	2	18.2	3	27.3	11
A	2	11.8	5	29.4	8	47.1	2	11.8	0	0.0	17
M	0	0.0	0	0.0	15	88.2	1	5.9	1	5.9	17
J	0	0.0	0	0.0	14	93.3	1	6.7	0	0.0	15
J	1	9.1	2	18.2	6	54.5	0	0.0	2	18.2	11
TOTAL	13		18		86		45		16		178

TABLA 6. Distribución mensual de la frecuencia (%) de estados gonadales en ***Fissurella latimarginata***. Los Vilos. Hembras.

MES	ESTADOS GONADALES										
	D1		D2		D3		R1		R2		TOTAL
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%	N
A	0	0.0	2	20.0	6	60.0	2	20.0	0	0.0	10
S	1	7.7	0	0.0	7	53.8	4	30.8	1	7.7	13
O	1	9.1	1	9.1	7	63.6	2	18.2	0	0.0	11
N	1	6.7	0	0.0	9	60.0	4	26.7	1	6.7	15
D	1	5.0	3	15.0	13	65.0	3	15.0	0	0.0	20
E	2	10.0	0	0.0	14	70.0	3	15.0	1	5.0	20
F	1	6.3	5	31.3	9	56.3	1	6.3	0	0.0	16
M	4	21.1	13	68.4	0	0.0	2	10.5	0	0.0	19
A	2	12.5	3	18.8	11	68.8	0	0.0	0	0.0	16
M	1	7.7	0	0.0	12	92.3	0	0.0	0	0.0	13
J	1	6.7	1	6.7	10	66.7	3	20.0	0	0.0	15
J	3	17.6	4	23.5	7	41.2	3	17.6	0	0.0	17
TOTAL	18		32		105		27		3		185

TABLA 7. Distribución mensual de la frecuencia (%) de estados gonadales en ***Fissurella latimarginata***. Los Vilos. Total poblacional.

MES	ESTADOS GONADALES										
	D1		D2		D3		R1		R2		TOTAL
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%	N
A	3	11.1	5	18.6	11	40.7	4	14.8	4	14.8	27
S	2	6.7	1	3.3	12	40.0	13	43.3	2	6.7	30
O	2	7.4	2	7.4	15	55.6	7	25.9	1	3.7	27
N	1	3.1	1	3.1	20	62.5	8	25.0	2	6.3	32
D	1	3.0	4	12.1	16	48.5	12	36.4	0	0.0	33
E	2	6.7	0	0.0	14	46.6	11	36.7	3	10.0	30
F	3	9.1	6	18.2	20	60.6	3	9.1	1	3.0	33
M	7	23.3	16	53.4	0	0.0	4	13.3	3	10.0	30
A	4	12.1	8	24.2	19	57.6	2	6.1	0	0.0	33
M	1	3.3	0	0.0	27	90.1	1	3.3	1	3.3	30
J	1	3.3	1	3.3	24	80.1	4	13.3	0	0.0	30
J	4	14.3	6	21.4	13	46.5	3	10.7	2	7.1	28
TOTAL	31		50		191		72		19		363

TABLA 8. Resultados del índice gonadosomático (IGS) en ***Fissurella latimarginata***. Punta Coloso. Machos, hembras y total poblacional por mes.

MES	MACHOS		HEMBRAS		TOTAL	
	Promedio	D.E.	Promedio	D.E.	Promedio	D.E.
A	10.5	6.5	6.6	2.1	7.8	4.5
S	14.5	2.3	14.6	3.0	14.6	3.5
O	10.6	2.7	8.8	3.9	9.7	3.6
N	9.7	3.4	6.3	1.1	7.9	3.1
D	21.0	4.9	20.3	4.2	20.2	6.3
E	9.8	4.6	12.2	5.0	10.8	5.2
F	14.9	5.0	14.5	6.7	14.8	5.5
M	9.6	1.5	5.2	1.8	7.6	2.8
A	6.6	3.7	5.9	3.6	6.1	3.9
M	4.6	1.9	3.3	1.5	4.0	2.13
J	5.5	1.9	5.6	1.7	5.6	1.9
J	5.3	2.0	3.1	0.9	4.2	1.4

TABLA 9. Resultados del índice gonadosomático (IGS) en ***Fissurella latimarginata***. Los Vilos. Machos, hembras y total poblacional por mes.

MES	MACHOS		HEMBRAS		TOTAL	
	Promedio	D.E.	Promedio	D.E.	Promedio	D.E.
A	8.0	5.3	7.4	8.5	7.7	8.2
S	6.7	4.7	7.0	3.6	6.9	3.9
O	9.4	6.2	6.5	4.0	9.4	4.0
N	9.7	5.0	12.8	6.6	11.2	6.5
D	7.4	3.2	5.6	1.7	6.3	2.1
E	9.2	3.1	6.5	2.3	7.4	2.4
F	7.8	2.8	7.4	2.1	7.6	2.1
M	4.7	3.0	3.3	1.2	3.9	4.3
A	9.6	6.8	9.3	6.4	9.4	5.2
M	10.0	6.6	9.0	5.0	9.6	5.1
J	7.7	4.4	8.5	4.9	8.1	5.9
J	4.7	3.1	6.1	3.5	5.4	3.4

TABLA 10. Resultados del análisis de varianza (ANDEVA, p = 0.05) de una vía, para el índice gonadosomático (IGS), por localidad, sexo y mes.

	Origen de la variación	Grados de libertad	F	Probabilidad	Valor crítico de F	Diferencia significativa
Antofagasta	Sexo	1	0.62	0.420	4.300	NO
	Mes	11	14.01	0.000	2.720	SÍ
Los Vilos	Sexo	1	0.35	0.560	4.300	NO
	Mes	11	5.78	0.003	2.720	SÍ
Machos	Localidad	1	2.46	0.131	4.300	NO
Hembras	Localidad	1	0.70	0.410	4.300	NO

TABLA 11. Resultados de las mediciones mensuales de la altura de la línea germinal en machos de ***Fissurella latimarginata***. Punta Coloso. LGT: Línea germinal temprana; LGA: Línea germinal avanzada.

MES	LINEA GERMINAL			
	LGT		LGA	
	PROMEDIO	D.E.	PROMEDIO	D.E.
A	41,9	12,7	34,6	11,4
S	46,4	2,2	47,8	6,6
O	61,2	15,5	44,7	13,4
N	88,5	10,7	27,3	3,1
D	55,0	5,7	88,2	17,0
E	81,1	9,0	44,0	13,3
F	64,3	17,1	47,4	26,2
M	76,2	8,7	27,4	8,0
A	62,5	16,4	41,5	16,0
M	61,0	14,8	33,6	8,1
J	52,4	12,8	64,7	12,7
J	57,0	9,0	32,2	12,0

TABLA 12. Resultados de las mediciones mensuales de la altura de la línea germinal en machos de ***Fissurella latimarginata*** . Los Vilos . LGT : Línea germinal temprana ; LGA : Línea germinal avanzada.

MES	LINEA GERMINAL			
	LGT		LGA	
	PROMEDIO	D.E.	PROMEDIO	D.E.
A	74,3	16,6	45,7	25,9
S	76,0	11,7	45,3	26,3
O	62,1	18,7	51,8	22,3
N	47,0	10,9	56,8	13,2
D	70,7	11,4	34,7	9,4
E	81,4	7,3	26,5	4,5
F	70,2	9,4	48,7	18,5
M	74,8	12,3	23,1	6,9
A	55,3	12,1	39,4	17,4
M	50,5	20,0	85,0	23,3
J	46,8	8,8	99,0	16,9
J	82,3	21,9	45,3	19,8

TABLA 13. Resultados del análisis de varianza de una vía (ANDEVA, p = 0.05), para mediciones de la altura de la línea germinal en machos, por mes, localidad y tipo celular.

	Origen de la variación	Grados de libertad	F	Probabilidad	Valor crítico de F	Diferencia significativa
LGT	Mes	11	13.90	0.000	2.820	SÍ
	Localidad	1	11.54	0.006	4.840	SÍ
LGA	Mes	11	10.26	0.000	2.820	SÍ
	Localidad	1	2.12	0.180	4.840	NO
Antofagasta	LG	1	7.80	0.010	4.300	SÍ
Los Vilos	LG	1	4.60	0.043	4.300	SÍ

TABLA 14. Resultados de la comparación de promedios mensuales de la altura de la línea germinal temprana (LGT), según el método T' de Spjotvoll & Stoline. Punta Coloso. Machos. El sombreado indica las diferencias significativas entre los meses.

	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J
A		0,999	0,013	0,000	0,344	0,000	0,000	0,000	0,005	0,015	0,882	0,140
S	0,999		0,060	0,000	0,776	0,000	0,002	0,000	0,023	0,068	0,999	0,449
O	0,013	0,060		0,000	0,920	0,000	0,989	0,015	1,000	1,000	0,280	0,999
N	0,000	0,000	0,000		0,000	0,814	0,000	0,328	0,000	0,000	0,000	0,000
D	0,344	0,776	0,920	0,000		0,000	0,208	0,000	0,845	0,957	0,996	1,000
E	0,000	0,000	0,000	0,814	0,000		0,021	1,000	0,003	0,000	0,000	0,000
F	0,000	0,002	0,989	0,000	0,208	0,021		0,304	1,000	0,993	0,010	0,740
M	0,000	0,000	0,015	0,328	0,000	1,000	0,304		0,044	0,013	0,000	0,001
A	0,005	0,023	1,000	0,000	0,845	0,003	1,000	0,044		1,000	0,198	0,989
M	0,015	0,068	1,000	0,000	0,957	0,000	0,993	0,013	1,000		0,355	0,999
J	0,882	0,999	0,280	0,000	0,996	0,000	0,010	0,000	0,198	0,355		0,952
J	0,140	0,449	0,999	0,000	1,000	0,000	0,740	0,001	0,989	0,999	0,952	

TABLA 15. Resultados de la comparación de promedios mensuales de la altura de la línea germinal avanzada (LGA), según el método T' de Spjotvoll & Stoline. Punta Coloso. Machos. El sombreado indica las diferencias significativas entre los meses.

	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J
A		0,652	0,916	0,992	0,000	0,980	0,674	0,971	0,995	1,000	0,000	1,000
S	0,652		1,000	0,013	0,000	0,999	1,000	0,005	0,994	0,350	0,106	0,203
O	0,916	1,000		0,076	0,000	1,000	1,000	0,016	1,000	0,585	0,003	0,485
N	0,992	0,013	0,076		0,000	0,180	0,015	1,000	0,302	0,990	0,000	0,999
D	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
E	0,980	0,999	1,000	0,180	0,000		0,998	0,052	1,000	0,824	0,001	0,728
F	0,674	1,000	1,000	0,015	0,000	0,998		0,002	0,992	0,218	0,025	0,173
M	0,971	0,005	0,016	1,000	0,000	0,052	0,002		0,109	0,935	0,000	0,990
A	0,995	0,994	1,000	0,302	0,000	1,000	0,992	0,109		0,947	0,001	0,868
M	1,000	0,350	0,585	0,990	0,000	0,824	0,218	0,935	0,947		0,000	1,000
J	0,000	0,106	0,003	0,000	0,000	0,001	0,025	0,000	0,001	0,000		0,000
J	1,000	0,203	0,485	0,999	0,000	0,728	0,173	0,990	0,868	1,000	0,000	

TABLA 16. Rangos de talla (f%) de la altura de la línea germinal temprana (LGT), por mes. Punta Coloso. Machos. G = 29,1.

MES	0-30 µm		30-45 µm		45-60 µm		60-75 µm		> 75 µm		TOTAL	
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%	N	%
A	1	0,53	6	3,21	3	1,60	0	0	0	0	10	5,3
S	0	0,00	5	2,67	8	4,28	0	0	0	0	13	7,0
O	0	0,00	3	1,60	6	3,21	8	4,28	3	1,60	20	10,7
N	0	0,00	0	0	0	0	2	1,07	12	6,42	14	7,5
D	0	0,00	1	0,53	14	7,49	3	1,60	0	0,0	18	9,6
E	0	0,00	0	0	0	0	5	2,67	12	6,42	17	9,1
F	0	0,00	2	1,07	5	2,67	6	3,21	6	3,21	19	10,2
M	0	0,00	0	0	0	0,00	8	4,28	6	3,21	14	7,5
A	0	0,00	2	1,07	6	3,21	7	3,74	0	0,00	15	8,0
M	1	0,53	1	0,53	4	2,14	9	4,81	1	0,53	16	8,6
J	0	0,00	4	2,14	11	5,88	2	1,07	0	0	17	9,1
J	0	0,00	2	1,07	5	2,67	7	3,74	0	0	14	7,5
TOTAL	2	1,07	26	13,90	62	33,16	57	30,48	40	21,39	187	100

TABLA 17. Rangos de talla (f%) de la altura de la línea germinal avanzada (LGA), por mes. Punta Coloso. Machos. G= 29,1.

MES	0-15 µm		15-30 µm		30-45 µm		45-60 µm		> 60 µm		TOTAL	
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%	N	%
A	0	0,00	3	1,60	5	2,67	2	1	0	0	10	5,4
S	0	0	0	0,00	4	2,14	8	4	1	1	13	7,0
O	0	0	2	1,07	11	5,88	2	1,07	5	2,67	20	10,7
N	0	0	11	6	2	1	0	0,00	0	0,00	13	7,0
D	0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	18	9,6	18	9,6
E	0	0	2	1	8	4	5	2,67	2	1,07	17	9,1
F	0	0	9	4,81	1	0,53	3	1,60	6	3,21	19	10,2
M	0	0	13	7	2	1,07	0	0,00	0	0,00	15	8,0
A	0	0	3	1,60	6	3,21	4	2,14	2	1,07	15	8,0
M	0	0,00	5	2,67	10	5,35	1	0,53	0	0,00	16	8,6
J	0	0	1	0,53	0	0,00	4	2,14	12	6	17	9,1
J	0	0	7	3,74	5	2,67	1	0,53	1	1	14	7,5
TOTAL	0	0,00	56	29,95	54	28,88	30	16,04	47	25,13	187	100

TABLA 18. Residuos estandarizados de los rangos de talla de la altura de la línea germinal temprana (LGT). Punta Coloso. Machos.

MES	0 - 30 (µm)	30-45(µm)	45-60 (µm)	60-75 (µm)	> 75 (µm)
A	0,78	5,66	0,85	-2,70	-2,84
S	-0,92	3,70	4,39	-3,13	-3,29
O	-1,19	0,75	1,29	1,19	-2,30
N	-0,96	-1,49	-2,34	-1,76	5,61
D	-1,12	-0,83	7,45	-1,75	-4,00
E	-1,08	-1,67	-2,62	-0,18	4,50
F	-1,16	-0,02	0,75	0,09	-0,13
M	-0,96	-1,49	-2,34	2,77	1,08
A	-1,00	0,39	2,25	1,74	-3,58
M	0,25	-0,67	0,51	2,90	-3,01
J	-1,08	2,01	5,54	-2,27	-3,86
J	-0,96	0,50	1,68	2,02	-3,44

TABLA 19. Residuos estandarizados de los rangos de talla de la altura de la línea germinal avanzada (LGA). Punta Coloso. Machos.

MES	0 - 15 (µm)	15 - 30 (µm)	30 - 45 (µm)	45 - 60 (µm)	> 60 (µm)
A	-0,69	0,47	2,93	0,14	-2,93
S	-0,80	-2,57	1,28	4,77	-2,63
O	-1,04	-1,98	5,12	-1,23	-1,14
N	-0,80	6,22	-0,41	-2,06	-3,41
D	-0,97	-3,12	-2,55	-2,49	8,13
E	-0,94	-1,58	3,60	1,41	-2,60
F	-1,01	2,95	-1,91	-0,38	-0,27
M	-0,87	7,00	-0,69	-2,24	-3,70
A	-0,87	-0,53	2,50	0,98	-2,24
M	-0,91	0,77	5,39	-1,54	-3,85
J	-0,94	-2,29	-2,46	0,65	4,37
J	-0,84	2,74	1,91	-1,32	-2,80

TABLA 20. Resultados de la comparación de promedios mensuales de la altura de la línea germinal temprana (LGT), según el método T' de Spjotvoll & Stoline. Los Vilos. Machos. El sombreado indica las diferencias significativas entre los meses.

	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J
A		1,000	0,021	0,000	0,922	1,000	0,786	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000
S	1,000		0,138	0,000	0,998	0,999	0,984	1,000	0,001	0,000	0,000	0,995
O	0,021	0,138		0,070	0,900	0,065	0,877	0,728	0,959	0,398	0,086	0,023
N	0,000	0,000	0,070		0,000	0,000	0,000	0,001	0,825	1,000	1,000	0,000
D	0,922	0,998	0,900	0,000		0,842	1,000	1,000	0,137	0,008	0,000	0,688
E	1,000	0,999	0,065	0,000	0,842		0,789	0,986	0,001	0,000	0,000	1,000
F	0,786	0,984	0,877	0,000	1,000	0,789		1,000	0,061	0,001	0,000	0,617
M	1,000	1,000	0,728	0,001	1,000	0,986	1,000		0,088	0,006	0,000	0,965
A	0,000	0,001	0,959	0,825	0,137	0,001	0,061	0,088		0,997	0,866	0,000
M	0,000	0,000	0,398	1,000	0,008	0,000	0,001	0,006	0,997		1,000	0,000
J	0,000	0,000	0,086	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,866	1,000		0,000
J	1,000	0,995	0,023	0,000	0,688	1,000	0,617	0,965	0,000	0,000	0,000	

TABLA 21. Resultados de la comparación de promedios mensuales de la altura de la línea germinal avanzada (LGA), según el método T' de Spjotvoll & Stoline. Los Vilos. Machos. El sombreado indica las diferencias significativas entre los meses.

	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J
A		1,000	1,000	0,973	0,863	0,366	1,000	0,135	0,988	0,000	0,000	1,000
S	1,000		0,998	0,851	0,963	0,557	1,000	0,253	0,999	0,000	0,000	1,000
O	1,000	0,998		1,000	0,497	0,124	1,000	0,032	0,799	0,000	0,000	1,000
N	0,973	0,851	1,000		0,132	0,022	0,988	0,004	0,258	0,001	0,000	0,965
D	0,863	0,963	0,497	0,132		0,998	0,784	0,961	1,000	0,000	0,000	0,980
E	0,366	0,557	0,124	0,022	0,998		0,286	1,000	0,941	0,000	0,000	0,554
F	1,000	1,000	1,000	0,988	0,784	0,286		0,095	0,960	0,000	0,000	1,000
M	0,135	0,253	0,032	0,004	0,961	1,000	0,095		0,722	0,000	0,000	0,251
A	0,988	0,999	0,799	0,258	1,000	0,941	0,960	0,722		0,000	0,000	1,000
M	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		0,705	0,000
J	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,705		0,000
J	1,000	1,000	1,000	0,965	0,980	0,554	1,000	0,251	1,000	0,000	0,000	

TABLA 22. Rangos de talla (f%) de la altura de la línea germinal temprana (LGT), por mes. Los Vilos. Machos. G= 10.

MES	0-30 µm		30-45 µm		45-60 µm		60-75 µm		> 75 µm		TOTAL	
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%	N	%
A	1	0,56	0	0,00	0	0,00	5	3	11	6	17	9,6
S	0	0	0	0,00	1	0,56	7	4	9	5	17	9,6
O	0	1	1	0,56	6	3,37	4	2,25	4	2,25	17	9,6
N	2	0	9	5	6	3	2	1,12	0	0,00	17	9,6
D	0	0	0	0,00	2	1,12	6	3,37	5	2,8	13	7,3
E	0	0	0	0	0	0	2	1,12	8	4,49	10	5,6
F	0	0	0	0,00	2	1,12	10	5,62	5	2,81	17	9,6
M	0	0	0	0	1	0,56	3	1,69	7	3,93	11	6,2
A	1	1	2	1,12	6	3,37	7	3,93	0	0,00	16	9,0
M	5	2,81	1	0,56	4	2,25	6	3,37	1	0,56	17	9,6
J	0	0	5	2,81	9	5,06	1	0,56	0	0	15	8,4
J	0	0	1	0,56	0	0,00	2	1,12	8	4	11	6,2
TOTAL	9	5,06	19	10,67	37	20,79	55	30,90	58	32,58	178	100

TABLA 23. Rangos de talla (f%) de la altura de la línea germinal avanzada (LGA), por mes. Los Vilos. Machos. G= 10.

MES	0-15 µm		15-30 µm		30-45 µm		45-60 µm		> 60 µm		TOTAL	
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%	N	%
A	1	1	6	3,37	4	2,25	1	0,56	5	3	17	9,55
S	1	1	5	3	4	2,25	3	1,69	5	2,81	18	10,11
O	1	1	2	1,12	2	1,12	2	1,12	7	3,90	14	7,83
N	0	0	0	0,00	1	0,56	11	6	5	3	17	9,55
D	0	0	5	3	6	3	2	1	0	0,00	13	7,30
E	0	0	8	4,49	2	1,12	0	0,00	0	0,00	10	5,62
F	1	1	2	1,12	4	2,25	6	3,37	4	2,29	17	9,59
M	1	1	9	5,06	1	0,56	0	0	0	0	11	6,18
A	1	1	5	2,81	4	2,25	7	3,93	1	0,56	18	10,11
M	0	0	1	0,56	1	0,56	0	0,00	15	8	17	9,54
J	0	0	0	0,00	0	0	0	0,00	15	8,43	15	8,43
J	1	1	1	0,56	5	2,81	1	0,56	3	1,68	11	6,17
TOTAL	7	4	44	24,72	34	19,10	33	18,54	60	33,71	178	100

TABLA 24. Residuos estandarizados de los rangos de talla de la altura de la línea germinal temprana (LGT). Los Vilos. Machos.

MES	0 - 30 (µm)	30-45 (µm)	45-60 (µm)	60-75 (µm)	> 75 (µm)
A	0,18	-1,67	-2,62	-0,18	3,80
S	-1,08	-1,67	-1,88	1,22	2,41
O	1,43	-0,75	1,83	-0,87	-1,07
N	-1,08	6,60	1,83	-2,27	-3,86
D	-0,92	-1,42	-0,58	1,54	0,59
E	-0,79	-1,23	-1,93	-0,95	4,13
F	-1,08	-1,67	-1,14	3,31	-0,38
M	-0,84	-1,29	-1,14	-0,33	2,85
A	0,25	0,27	2,03	1,47	-3,72
M	5,20	-0,75	0,35	0,52	-3,16
J	-1,00	3,28	4,59	-2,67	-3,58
J	-0,84	-0,19	-2,03	-1,17	3,69

TABLA 25. Residuos estandarizados de los rangos de talla de la altura de la línea germinal avanzada (LGA). Los Vilos. Machos.

MES	0 - 15 (µm)	15 - 30 (µm)	30 - 45 (µm)	45 - 60 (µm)	> 60 (>m)
A	0,47	1,29	0,57	-1,64	-0,51
S	0,40	0,39	0,42	-0,25	-0,73
O	0,68	-1,13	-0,55	-0,49	1,72
N	-0,94	-3,01	-1,70	6,00	-0,51
D	-0,80	1,43	2,98	-0,35	-3,41
E	-0,69	4,95	0,09	-1,77	-2,93
F	0,47	-1,58	0,57	2,18	-1,21
M	0,96	5,39	-1,00	-1,87	-3,10
A	0,40	0,39	0,42	2,74	-3,45
M	-0,94	-2,29	-1,70	-2,41	6,46
J	-0,87	-2,79	-2,28	-2,24	7,28
J	0,96	-1,48	2,63	-0,95	-0,59

TABLA 26. Resultados del recuento por área de tipos celulares de ***Fissurella latimarginata*** . Punta Coloso. Hembras. OPV: ovocitos previtelogénicos; OVA: ovocitos vitelogénicos adheridos; OVL: ovocitos vitelogénicos libres.

MES	TIPOS CELULARES					
	OPV		OVA		OVL	
	PROMEDIO	D.E.	PROMEDIO	D.E.	PROMEDIO	D.E.
A	5.8	4.5	1.3	1.5	12.1	3.0
S	0.1	0.5	0.1	0.1	12.3	1.4
O	4.6	8.9	1.0	1.2	13.4	3.0
N	11.2	3.1	2.4	1.0	8.9	2.2
D	0.0	0.0	0.0	0.0	11.2	0.9
E	3.1	3.7	0.8	0.9	11.1	1.9
F	4.7	5.4	0.5	0.7	10.1	2.3
M	10.2	2.4	2.0	1.0	9.0	1.2
A	5.4	4.2	0.8	0.6	12.3	1.2
M	8.4	6.9	1.3	1.1	11.9	2.4
J	2.4	2.2	0.5	0.8	12.5	1.2
J	8.6	3.9	3.4	1.4	9.8	1.4

TABLA 27. Resultados del recuento por área de tipos celulares de ***Fissurella latimarginata*** Los Vilos. Hembras. OPV : ovocitos previtelogénicos ; OVA: ovocitos vitelogénicos adheridos; OVL: ovocitos vitelogénicos libres.

MES	TIPOS CELULARES					
	OPV		OVA		OVL	
	PROMEDIO	D.E.	PROMEDIO	D.E.	PROMEDIO	D.E.
A	3.4	3.4	0.53	0.7	11.5	1.8
S	5.0	3.9	0.16	0.2	10.5	1.3
O	5.5	8.7	0.07	0.1	11.3	2.4
N	2.0	3.4	0.03	0.1	10.9	1.6
D	3.6	2.2	0.73	0.5	10.4	1.7
E	3.2	4.0	0.69	0.4	8.3	1.9
F	4.2	3.0	0.25	0.3	10.1	1.1
M	7.7	4.6	0.56	0.6	9.7	1.7
A	4.7	7.5	0.17	0.3	10.2	2.8
M	3.0	4.0	0.13	0.5	9.6	1.4
J	5.9	11.8	0.25	0.5	7.9	3.6
J	8.9	12.2	0.70	2.0	7.9	3.3

TABLA 28. Resultados del análisis de varianza de una vía (ANDEVA, p = 0.05), para el número de tipos celulares en hembras de ***Fissurella latimarginata,*** por tipo celular , mes y localidad.

	Origen de la Variación	Grados de libertad	F	Probabilidad	Valor crítico de F	Diferencia significativa
OPV	Antofagasta	11	7,62	0.0000	2,26	SÍ
	Los Vilos	11	1,52	0,1273	2,26	NO
	Localidad	1	0.00	0,9600	4,3	NO
OVA	Antofagasta	11	14,35	0.0000	2,26	SÍ
	Localidad	1	7,46	0,0100	4,30	SÍ
	Los Vilos	11	11,54	0.0000	2,26	SÍ
OVL	Antofagasta	11	11,44	0.0000	2,26	SÍ
	Localidad	1	3,65	0,0700	4,30	NO
	Los Vilos	11	4,31	0.0000	2,26	SÍ
Antofagasta	Tipos	2	54,6	0.0000	3,44	SÍ
Los Vilos	Tipos	2	178,2	0,0001	3,44	SÍ

TABLA 29. Resultados de la comparación de promedios mensuales del número de ovocitos previtelogénicos (OPV), según el método T´ de Spjotvoll & Stoline. Punta Coloso. Hembras. El sombreado muestra las diferencias significativas entre los meses.

	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J
A		0,007	1,000	1,000	0,157	0,920	1,000	1,000	1,000	0,913	0,697	0,026
S	0,007		0,560	0,014	1,000	0,892	0,178	0,012	0,002	0,110	0,972	0,000
O	1,000	0,560		0,000	0,508	1,000	1,000	1,000	1,000	0,775	0,996	0,061
N	1,000	0,014	0,000		0,000	0,000	0,001	1,000	1,000	0,890	0,000	0,021
D	0,157	1,000	0,508	0,000		0,942	0,462	0,000	0,252	0,011	0,989	0,000
E	0,920	0,892	1,000	0,000	0,942		0,999	0,829	0,975	0,097	1,000	0,000
F	1,000	0,178	1,000	0,001	0,462	0,999		0,000	1,000	0,505	0,972	0,005
M	1,000	0,012	1,000	1,000	0,000	0,829	0,000		0,000	0,970	0,000	0,104
A	1,000	0,115	0,002	1,000	0,252	0,975	1,000	0,000		0,864	0,878	0,054
M	0,913	0,000	0,775	0,890	0,002	0,097	0,505	0,970	0,864		0,021	0,889
J	0,697	0,972	0,996	0,000	0,989	1,000	0,972	0,000	0,878	0,110		0,000
J	0,026	0,000	0,061	0,021	0,000	0,000	0,005	0,104	0,054	0,889	0,000	

TABLA 30. Resultados de la comparación de promedios mensuales del número de ovocitos vitelogénicos adheridos (OVA), según el método T´ de Spjotvoll & Stoline. Punta Coloso. Hembras. El sombreado muestra las diferencias significativas entre los meses.

	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J
A		0,025	1,000	0,087	0,253	0,986	0,699	0,755	0,997	1,000	0,684	0,000
S	0,025		0,745	0,000	1,000	0,871	0,991	0,000	0,767	0,044	0,997	0,000
O	1,000	0,745		0,132	0,670	1,000	0,998	0,591	1,000	1,000	0,996	0,000
N	0,087	0,000	0,132		0,000	0,005	0,000	0,998	0,011	0,206	0,000	0,145
D	0,253	1,000	0,670	0,000		0,917	0,996	0,002	0,847	0,197	0,998	0,000
E	0,986	0,871	1,000	0,005	0,917		1,000	0,108	1,000	0,970	1,000	0,000
F	0,699	0,991	0,998	0,000	0,996	1,000		0,005	1,000	0,598	1,000	0,000
M	0,755	0,000	0,591	0,998	0,002	0,108	0,005		0,176	0,836	0,007	0,013
A	0,997	0,767	1,000	0,011	0,847	1,000	1,000	0,176		0,991	0,999	0,000
M	1,000	0,044	1,000	0,206	0,197	0,970	0,598	0,836	0,991		0,587	0,000
J	0,684	0,997	0,996	0,000	0,998	1,000	1,000	0,007	0,999	0,587		0,000
J	0,000	0,000	0,000	0,145	0,000	0,000	0,000	0,013	0,000	0,000	0,000	

TABLA 31. Resultados de la comparación de promedios mensuales del número de ovocitos vitelogénicos libres (OVL), según el método T' de Spjotvoll & Stoline . Punta Coloso Hembras . El sombreado muestra las diferencias significativas entre los meses.

	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J
A		1,000	0,995	0,000	0,998	0,978	0,249	0,002	1,000	1,000	1,000	0,000
S	1,000		0,982	0,000	0,992	0,938	0,151	0,001	1,000	1,000	1,000	0,000
O	0,995	0,982		0,000	1,000	1,000	0,997	0,000	0,981	0,999	0,956	0,000
N	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000	0,998	0,001	0,000	0,001	0,442
D	0,998	0,992	1,000	0,000		1,000	0,993	0,001	0,991	1,000	0,977	0,000
E	0,978	0,938	1,000	0,000	1,000		0,993	0,001	0,934	0,997	0,870	0,000
F	0,249	0,151	0,997	0,000	0,993	0,993		0,940	0,241	0,436	0,121	0,000
M	0,002	0,001	0,000	0,998	0,001	0,001	0,940		0,003	0,006	0,001	0,088
A	1,000	1,000	0,981	0,001	0,991	0,934	0,241	0,003		1,000	1,000	0,000
M	1,000	1,000	0,999	0,000	1,000	0,997	0,436	0,006	1,000		1,000	0,000
J	1,000	1,000	0,956	0,001	0,977	0,870	0,121	0,001	1,000	1,000		0,000
J	0,000	0,000	0,000	0,442	0,000	0,000	0,000	0,088	0,000	0,000	0,000	

TABLA 32 Residuos estandarizados del número de ovocitos por área en individuos de ***F. latimarginata***. Punta Coloso. Hembras.

MES	TIPOS CELULARES		
	OPV	OVA	OVL
A	0,23	-0,04	-0,17
S	-2,46	-1,28	2,33
O	-0,47	-0,44	0,51
N	2,78	1,12	-2,53
D	-2,40	-1,36	2,31
E	-0,78	-0,36	0,72
F	0,26	-0,86	0,08
M	2,47	0,73	-2,17
A	0,10	-0,69	0,15
M	1,34	-0,26	-0,95
J	-1,27	-0,87	1,27
J	1,41	2,54	-1,95

TABLA 33. Resultados de la comparación de promedios mensuales del número de ovocitos previtelogénicos (OPV), según el método T' de Spjotvoll & Stoline. Los Vilos. Hembras. El sombreado muestra las diferencias significativas entre los meses.

	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J
A		0,590	0,505	0,651	0,944	0,954	0,783	0,132	0,652	0,917	0,395	0,044
S	0,590		0,861	0,246	0,550	0,455	0,741	0,272	0,899	0,469	0,726	0,090
O	0,505	0,861		0,209	0,460	0,380	0,625	0,405	0,764	0,396	0,883	0,166
N	0,651	0,246	0,209		0,506	0,611	0,378	0,018	0,275	0,698	0,123	0,003
D	0,944	0,550	0,460	0,506		0,865	0,790	0,062	0,622	0,833	0,319	0,012
E	0,954	0,455	0,380	0,611	0,865		0,670	0,043	0,514	0,949	0,250	0,007
F	0,783	0,741	0,625	0,378	0,790	0,670		0,130	0,830	0,663	0,481	0,032
M	0,132	0,272	0,405	0,018	0,062	0,043	0,130		0,194	0,066	0,453	0,518
A	0,652	0,899	0,764	0,275	0,622	0,514	0,830	0,194		0,525	0,619	0,054
M	0,917	0,469	0,396	0,698	0,833	0,949	0,663	0,066	0,525		0,281	0,016
J	0,395	0,726	0,883	0,123	0,319	0,250	0,481	0,453	0,619	0,281		0,173
J	0,044	0,090	0,166	0,003	0,012	0,007	0,032	0,518	0,054	0,016	0,173	

TABLA 34. Resultados de la comparación de promedios mensuales del número de ovocitos vitelogénicos adheridos (OVA), según el método T' de Spjotvoll & Stoline. Los Vilos. Hembras. El sombreado muestra las diferencias significativas entre los meses.

	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J
A		0,602	0,250	0,141	0,994	0,999	0,901	1,000	0,094	0,094	0,094	0,094
S	0,602		1,000	0,998	0,002	0,007	1,000	0,127	0,991	0,993	0,991	0,991
O	0,250	1,000		1,000	0,001	0,004	0,992	0,068	1,000	1,000	1,000	1,000
N	0,141	0,998	1,000		0,000	0,000	0,845	0,002	1,000	1,000	1,000	1,000
D	0,994	0,002	0,001	0,000		1,000	0,006	0,968	0,000	0,000	0,000	0,000
E	0,999	0,007	0,004	0,000	1,000		0,019	0,997	0,000	0,000	0,000	0,000
F	0,901	1,000	0,992	0,845	0,006	0,019		0,311	0,678	0,844	0,765	0,678
M	1,000	0,127	0,068	0,002	0,968	0,997	0,311		0,000	0,004	0,001	0,000
A	0,094	0,991	1,000	1,000	0,000	0,000	0,678	0,000		1,000	1,000	1,000
M	0,094	0,993	1,000	1,000	0,000	0,000	0,844	0,004	1,000		1,000	1,000
J	0,094	0,991	1,000	1,000	0,000	0,000	0,765	0,001	1,000	1,000		1,000
J	0,094	0,991	1,000	1,000	0,000	0,000	0,678	0,000	1,000	1,000	1,000	

TABLA 35. Resultados de la comparación de promedios mensuales del número de ovocitos vitelogénicos libres (OVL), según el método T' de Spjotvoll & Stoline. Los Vilos. Hembras. El sombreado muestra las diferencias significativas entre los meses.

	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J
A		0,996	1,000	1,000	0,990	0,028	0,936	0,780	0,964	0,736	0,012	0,009
S	0,996		0,999	1,000	1,000	0,215	1,000	0,999	1,000	0,997	0,106	0,084
O	1,000	0,999		1,000	0,997	0,027	0,969	0,846	0,985	0,806	0,012	0,008
N	1,000	1,000	1,000		1,000	0,032	0,997	0,950	0,999	0,924	0,015	0,009
D	0,990	1,000	0,997	1,000		0,111	1,000	0,999	1,000	0,996	0,052	0,035
E	0,028	0,215	0,027	0,032	0,111		0,444	0,726	0,340	0,931	1,000	1,000
F	0,936	1,000	0,969	0,997	1,000	0,444		1,000	1,000	1,000	0,244	0,204
M	0,780	0,999	0,846	0,950	0,999	0,726	1,000		1,000	1,000	0,472	0,425
A	0,964	1,000	0,985	0,999	1,000	0,340	1,000	1,000		1,000	0,178	0,143
M	0,736	0,997	0,806	0,924	0,996	0,931	1,000	1,000	1,000		0,758	0,737
J	0,012	0,106	0,012	0,015	0,052	1,000	0,244	0,472	0,178	0,758		1,000
J	0,009	0,084	0,008	0,009	0,035	1,000	0,204	0,425	0,143	0,737	1,000	

TABLA 36 Residuos estandarizados del número de ovocitos por área en individuos de ***F. latimarginata*** . Los Vilos. Hembras.

MES	TIPOS CELULARES		
	OPV	OVA	OVL
A	-0,94	0,36	0,71
S	0,02	-0,47	0,09
O	0,08	-0,71	0,10
N	-1,37	-0,67	1,32
D	-0,69	0,85	0,38
E	-0,46	0,97	0,16
F	-0,27	-0,22	0,28
M	1,15	0,28	-1,04
A	-0,06	-0,42	0,15
M	-0,66	-0,41	0,66
J	0,91	-0,20	-0,73
J	1,94	0,59	-1,78

FIGURAS

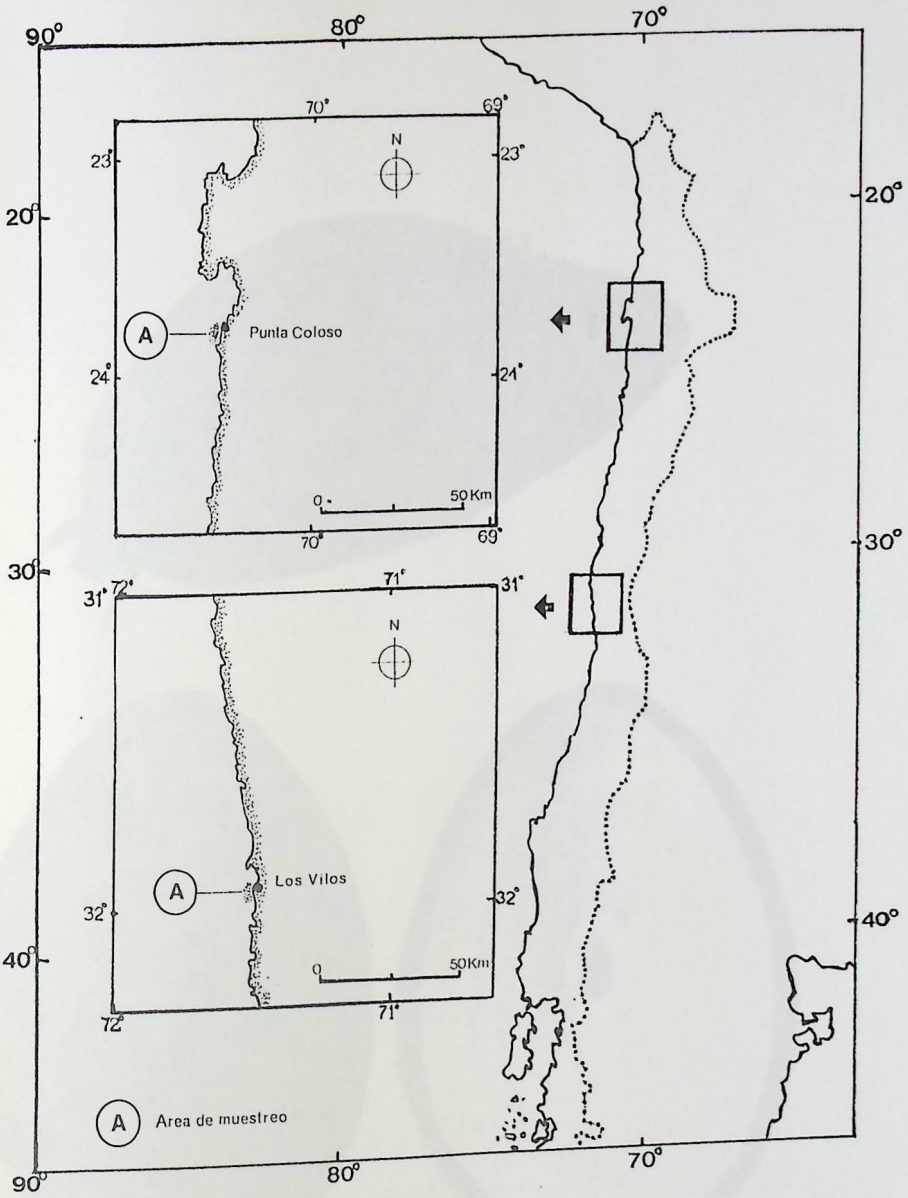


Figura 1. Ubicación geográfica de las localidades de muestreo



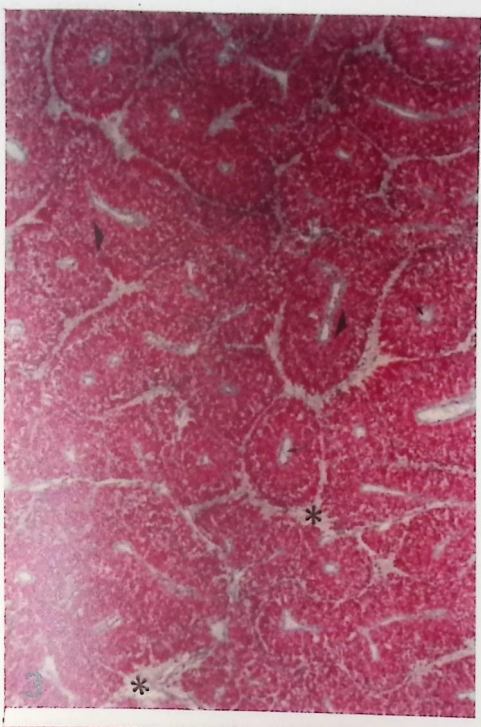
Figura 2. Ejemplar de ***Fissurella latimarginata*** (tomado de Oliva & Castilla, 1992).

Figura 3 MD1 : (Masculino. Desarrollo estado 1). Madurez inicial. Se observa la línea germinal temprana (LGT) en los septos gonadales al corte transversal de la porción de gónada. Es posible detectar la disposición radial centrífuga de las espermatogonias y de los espermatocitos (▶) alrededor del vaso hemolinfático del septo (→). Antro gonadal (✻). 100 X.

Figura 4 FD1 : (Femenino. Desarrollo estado 1). Madurez inicial. Se observa la LGT al corte transversal compuesta por ovogonias y ovocitos previtelogénicos 1 y 2 (▶) alrededor de la trabécula (→). 40 X.

Figura 5 MD2 : (Masculino. Desarrollo estado 2). Madurez avanzada. Los septos se encuentran rodeados con abundante LGT (▶) y por una banda de LGA que comienza a engrosarse, esta última presenta espermátidas avanzadas dispuestas en espigas (★) hacia el antro gonadal (✻). 100 X.

Figura 6 FD2 : (Femenino. Desarrollo estado 2). Madurez avanzada. Se deja en evidencia el gran número de OPV 1 y 2 (▶) que conforman la LGT. Una cantidad no despreciable de OVL presentando cubiertas gelatinosas, se encuentran en la sección (➤). 40 X.



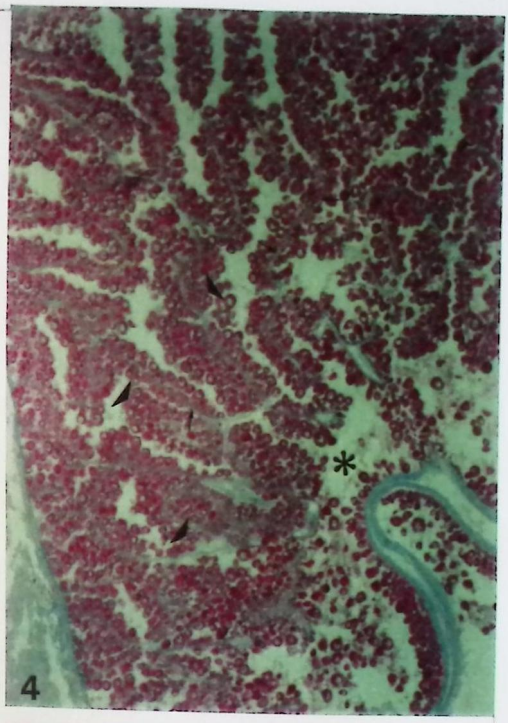






Figura 7 MD3 : (Masculino. Desarrollo estado 3). Madurez total. Es fácilmente reconocible la banda persistente de LGT (▸), asociada a una gran región germinal avanzada (LGA), constituída por abundantes y extensas espigas de espermátidas avanzadas (★). Vaso hemolinfático del septo gonadal (→). 100 X.

Figura 8 FD3 : (Femenino. Desarrollo estado 3). Madurez total. Los septos gonadales aparecen disminuídos en grosor (→) a causa de la gran cantidad de OVL que están llenando la cavidad gonadal (➢). 40 X.

Figura 9 MR1 : (Masculino. Regresión estado 1). Se observa la regresión inicial de la gónada o evacuación parcial de gametos maduros (espermatozoides). Nuevamente la región germinal temprana (LGT) comienza a engrosarse, en tanto se produce la desorganización de las espermátidas que formaban parte de las espigas (★), estructuras características de la madurez total. Grupos de espermatozoides liberados en el antro de la gónada (✻). Vaso hemolinfático (→). 100 X.

Figura 10 FR1 : (Femenino. Regresión estado 1). La emisión parcial de los óvulos de ***F. latimarginata*** exhibe una sección gonadal con LGT desarrollándose (▸), además de OVL en desorganización (☼) y desplazándose hacia el antro gonadal (✻). 40 X.



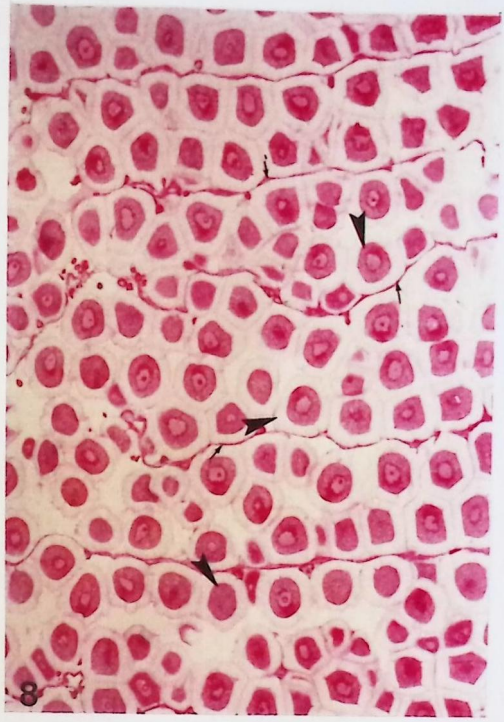
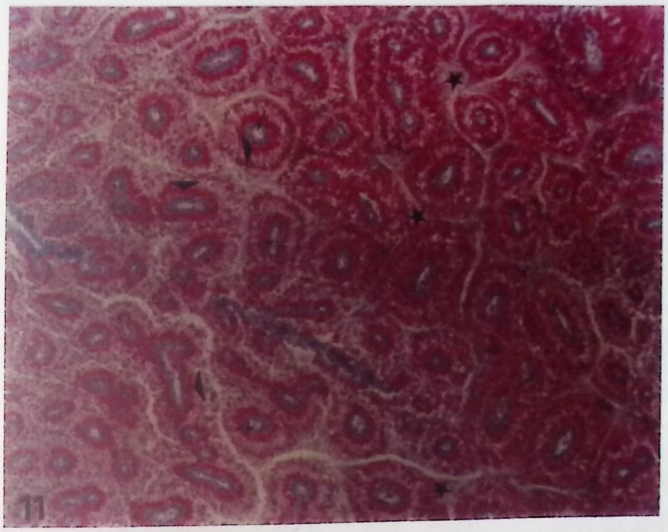




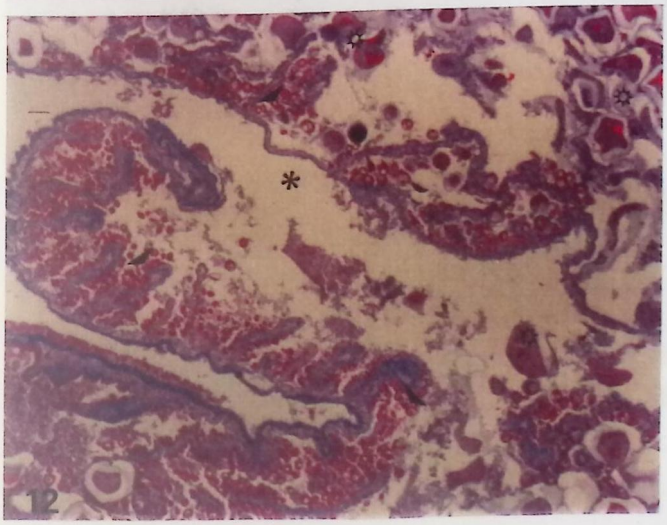


Figura 11 MR2 : (Masculino. Regresión estado 2). La microfotografía muestra una gónada en regresión final o evacuación total de espermatozoides, los septos gonadales se presentan depletados y con una estrecha banda de LGT compuesta por espermatogonias (▶). Es posible detectar espermatozoides residuales situados en el lúmen de la gónada (✱). Vaso hemolinfático (→). 100 X.

Figura 12 FR2 : (Femenino. Regresión estado 2). La gónada femenina presenta los septos gonadales depletados asociados a una región de LGT representada por ovogonias y OPV 1 y 2 (▶). OVL residuales en el antro de la gónada experimentando citólisis (✲). 40 X.



11



12

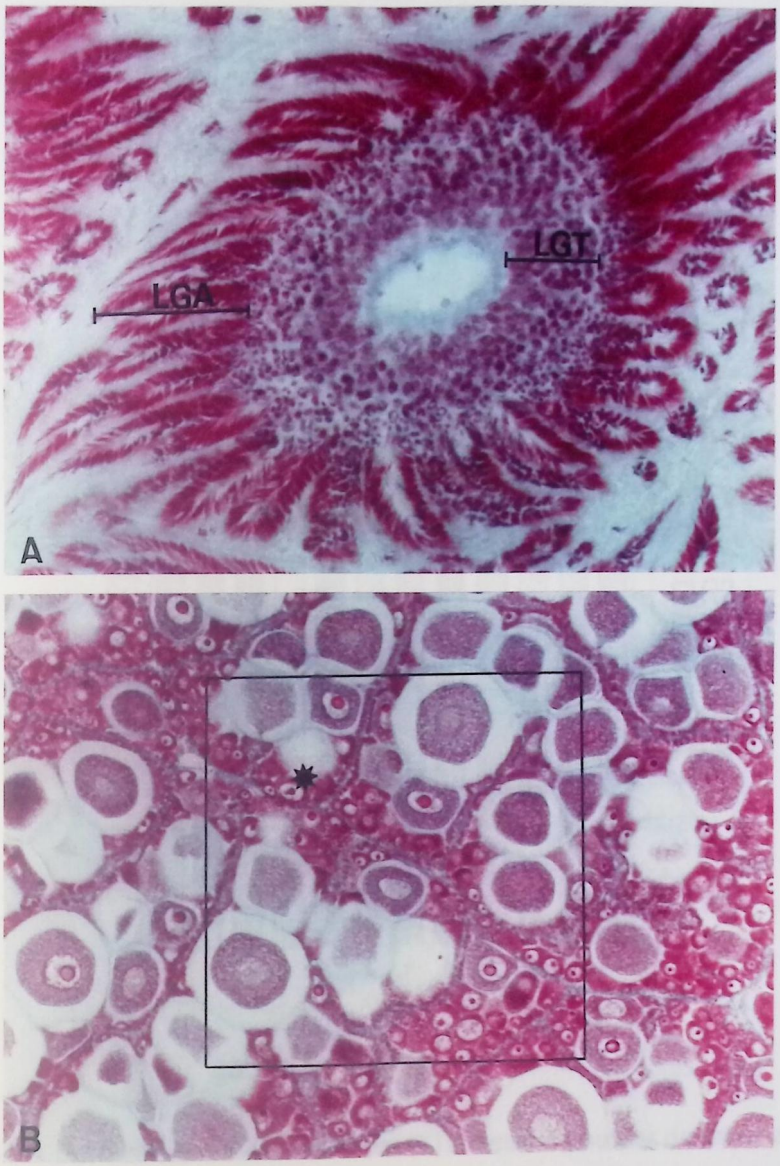


Figura 13. (A) Septo gonadal de un macho mostrando la distribución centrífuga radial de las regiones de células germinales medidas (LGT y LGA). (B) Recuento de ovocitos mediante videomicroscopía. Área de conteo (✸).

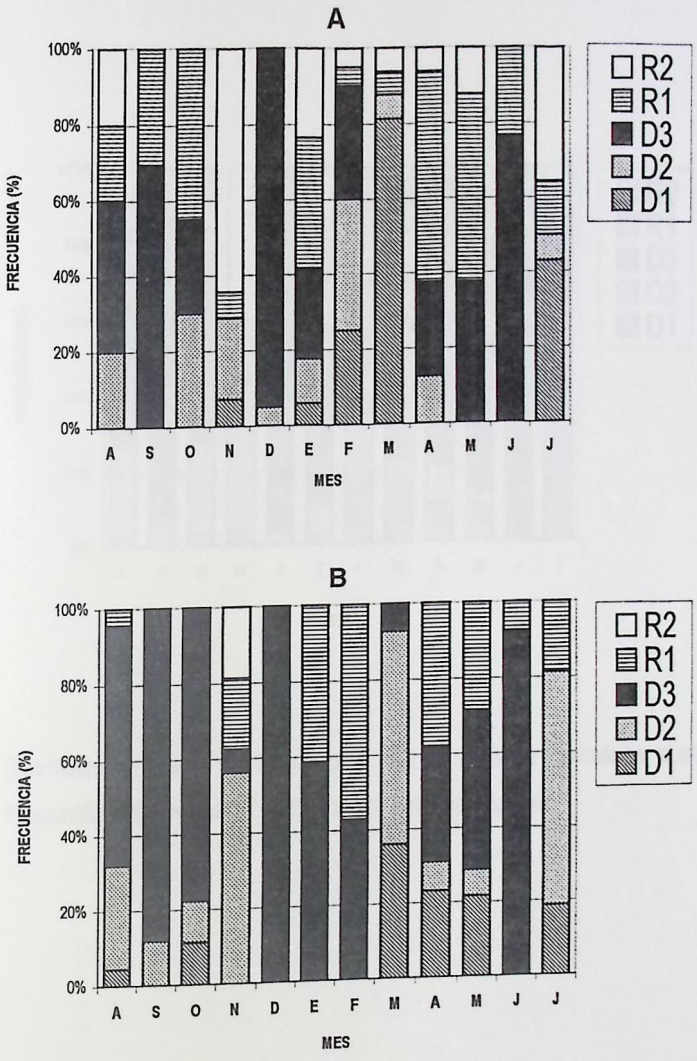


FIGURA 14. Distribución mensual de frecuencias (%) de estados gonadales cualitativos en ***Fissurella latimarginata***. Punta Coloso. (A): Machos; (B): Hembras.

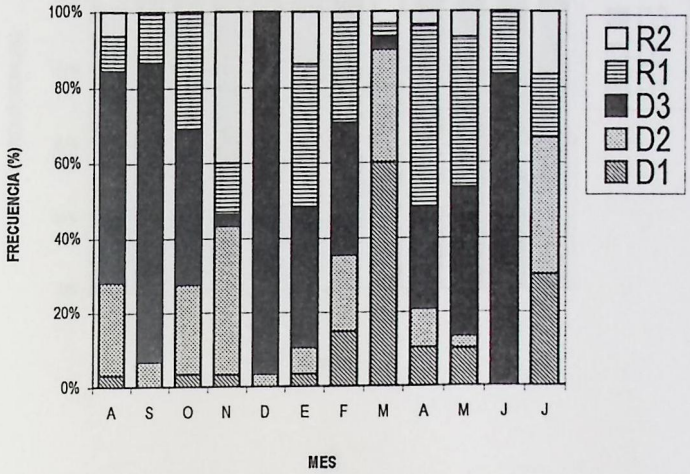


FIGURA 15. Distribución mensual de frecuencias (%) de estados gonadales cualitativos en ***Fissurella latimarginata***. Punta Coloso. Total poblacional.

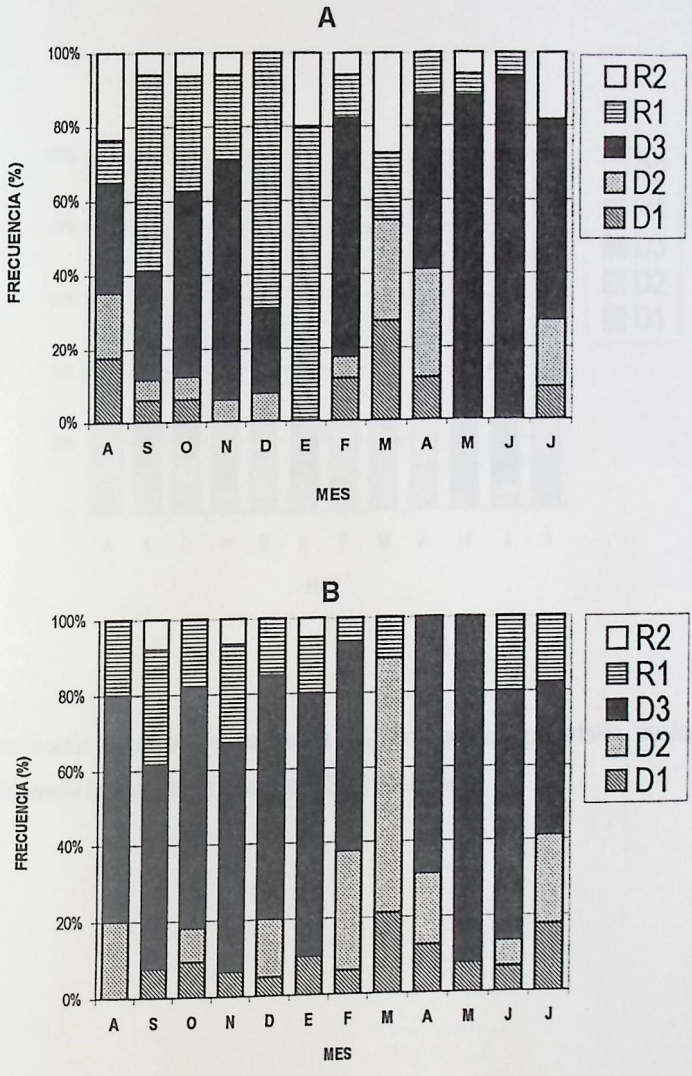


FIGURA 16. Distribución mensual de frecuencias (%) de estados gonadales cualitativos en ***Fissurella latimarginata***. Los Vilos. (A): Machos; (B): Hembras.

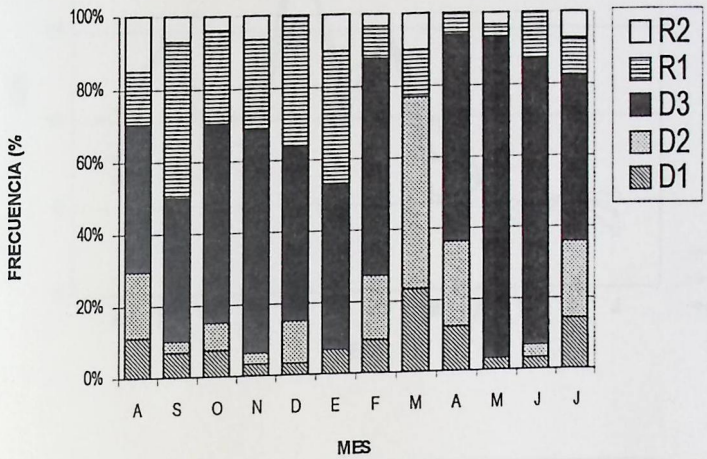


FIGURA 17. Distribución mensual de frecuencia (%) de estados gonadales cualitativos en ***Fissurella latimarginata***. Los Vilos. Total poblacional.

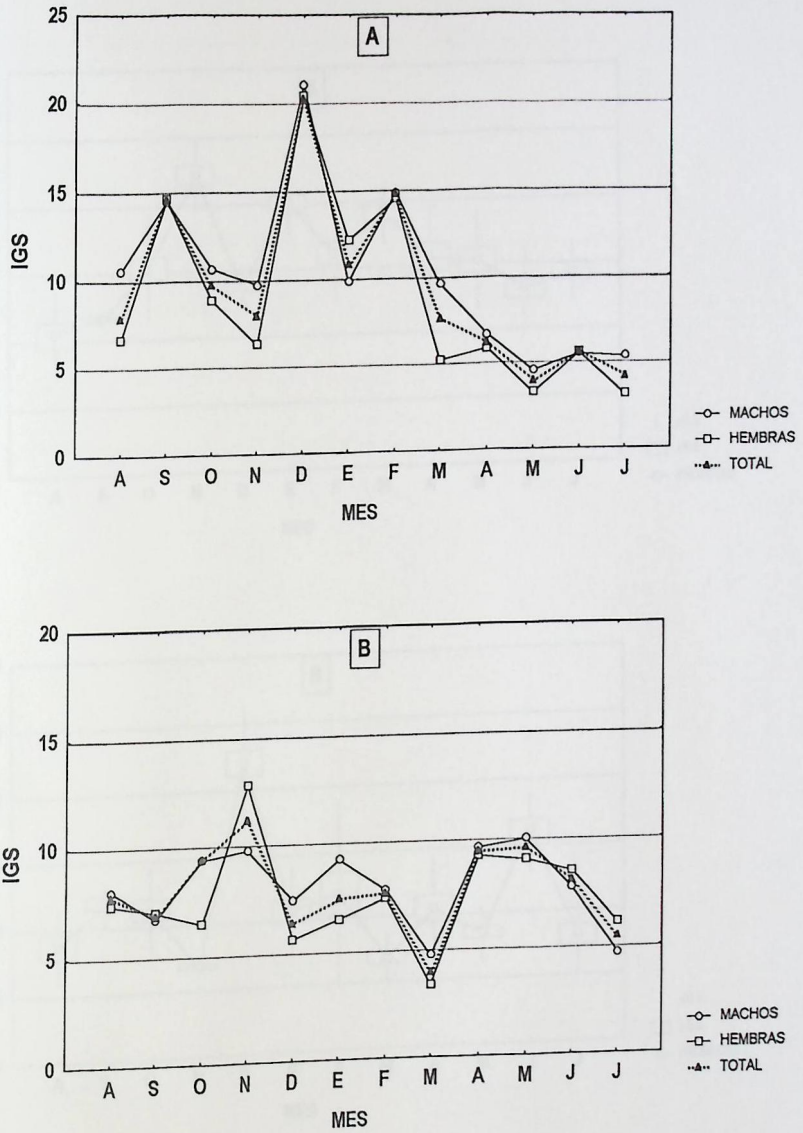


FIGURA 18. Índice gonadosomático mensual (IGS) de ***Fissurella latimarginata*** por localidad. Machos, hembras y total poblacional. (A): Punta Coloso; (B): Los Vilos.

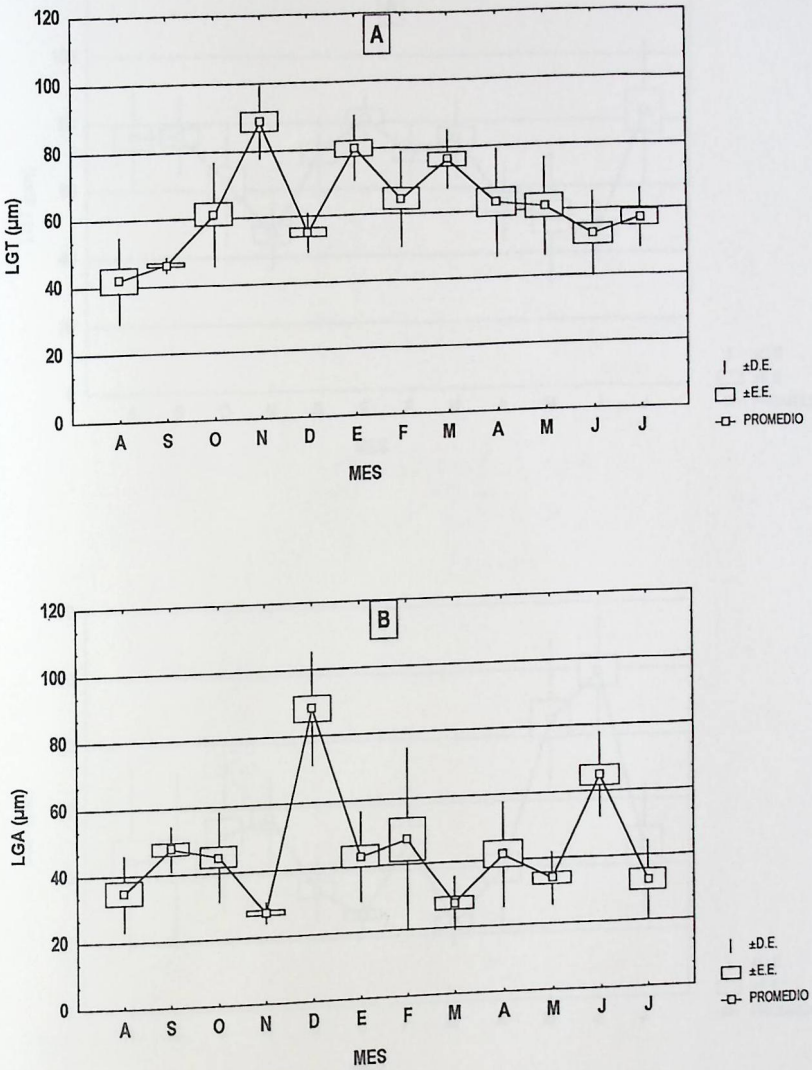


FIGURA 19. Distribución mensual de tallas de la altura de la línea germinal de ***Fissurella latimarginata***. Punta Coloso. Machos. (A): línea germinal temprana (LGT); (B): línea germinal avanzada (LGA).

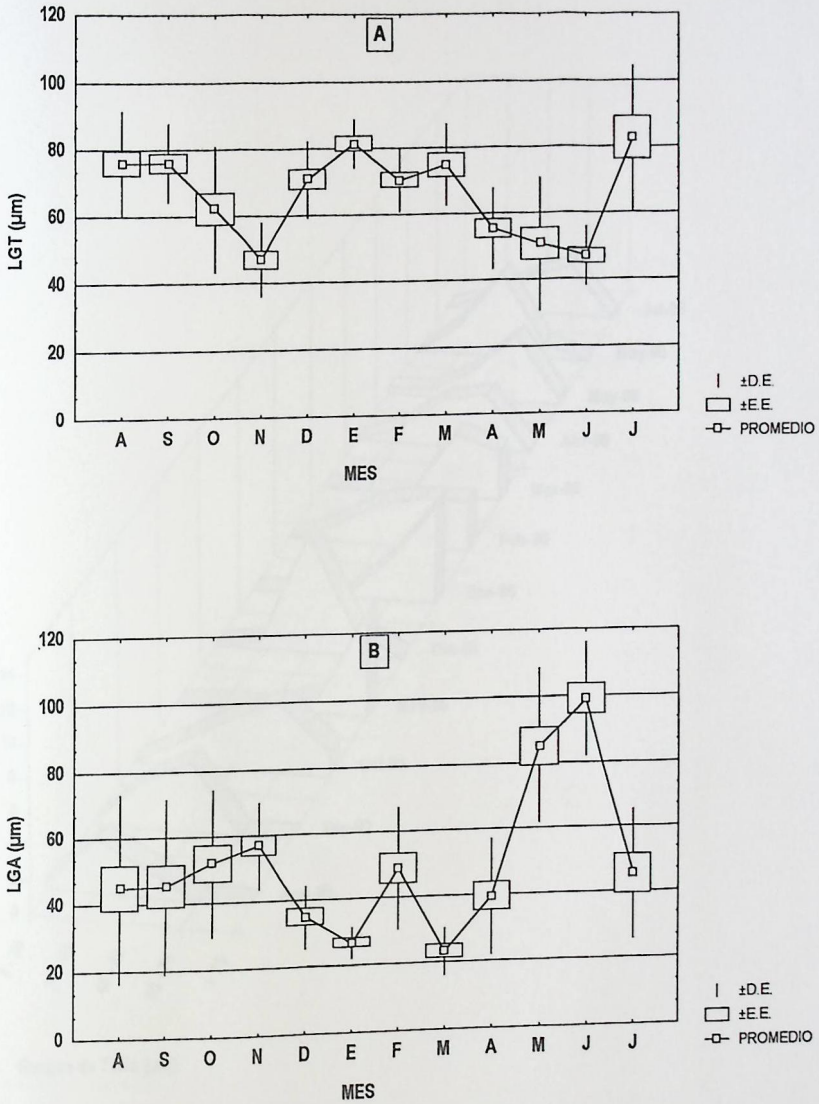


FIGURA 20. Distribución mensual de tallas de la altura de la línea germinal de ***Fissurella latimarginata***. Los Vilos. Machos. (A): línea germinal temprana (LGT); (B): línea germinal avanzada (LGA).

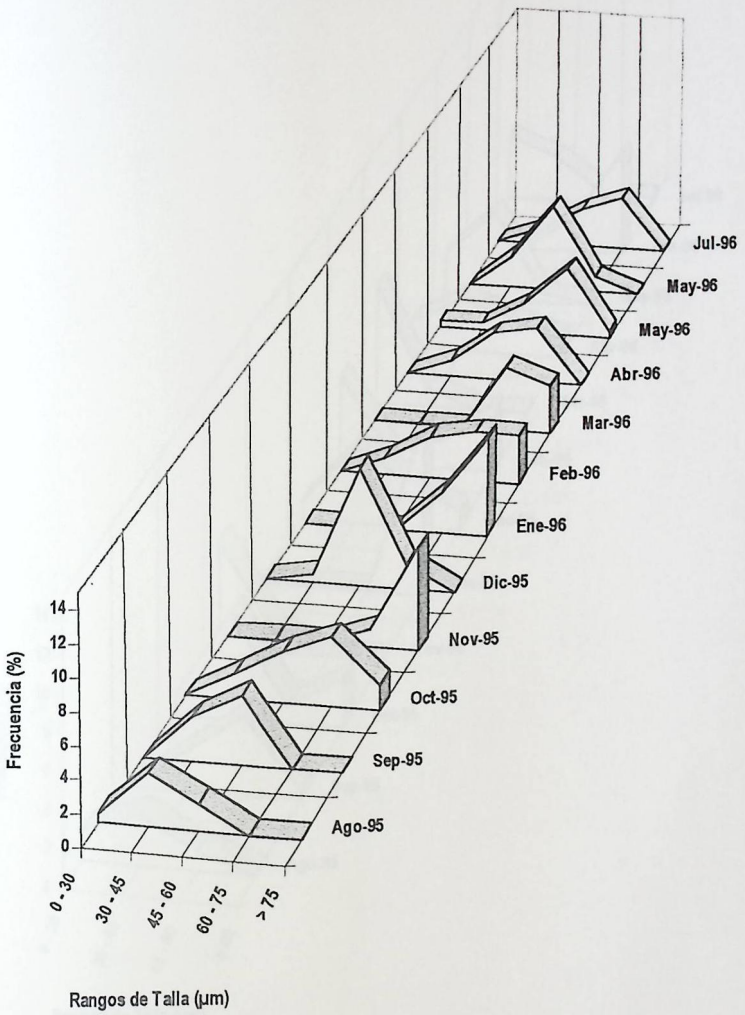


FIGURA 21. Composición por rangos de talla de la altura de la línea germinal temprana (LGT) de ***Fissurella latimarginata***. Punta Coloso. Machos.

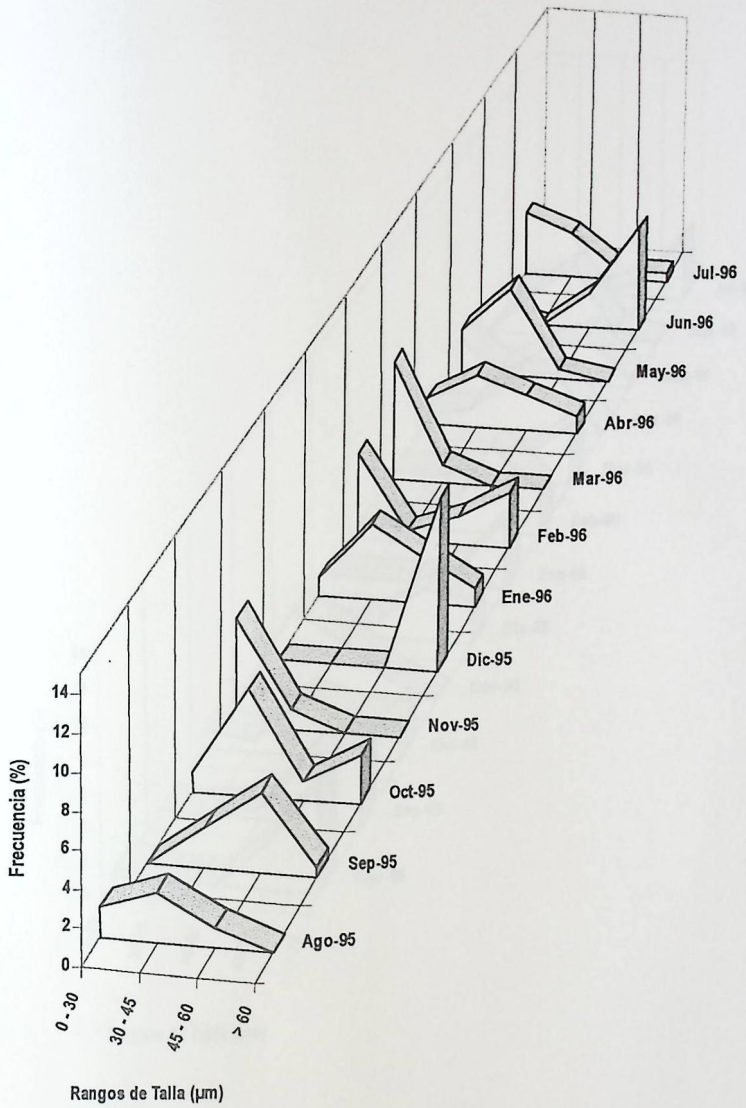


FIGURA 22. Composición por rangos de talla de la altura de la línea germinal avanzada (LGA) de ***Fissurella latimarginata***. Punta Coloso. Machos.

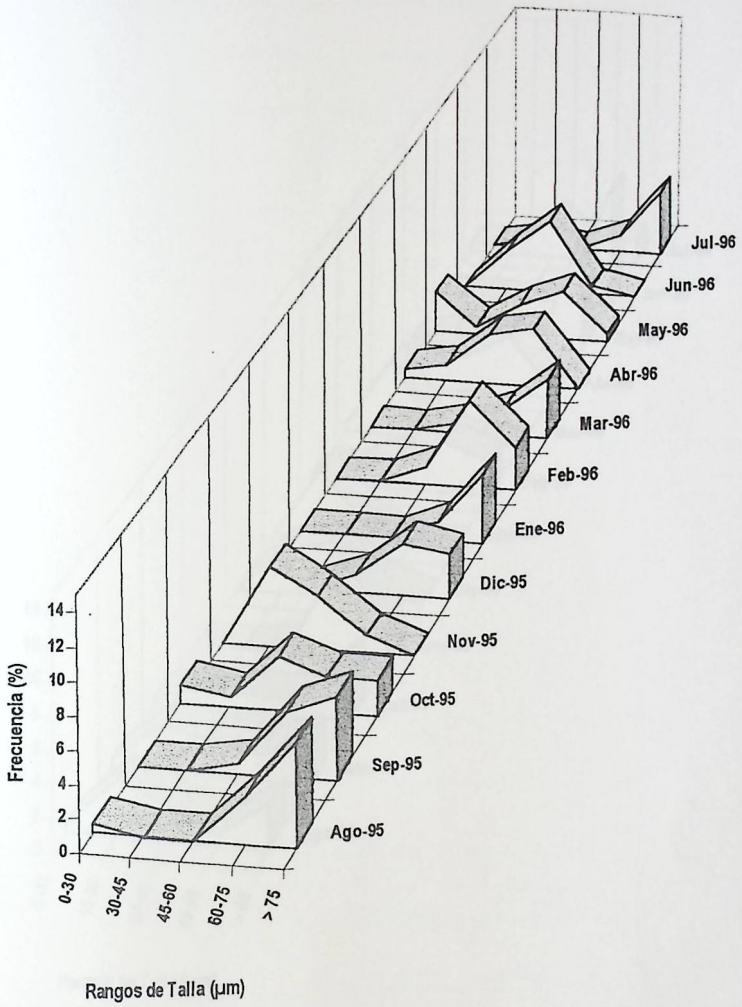


FIGURA 23. Composición por rangos de talla de la altura de la línea germinal temprana (LGT) de ***Fissurella latimarginata***. Los Vilos. Machos.

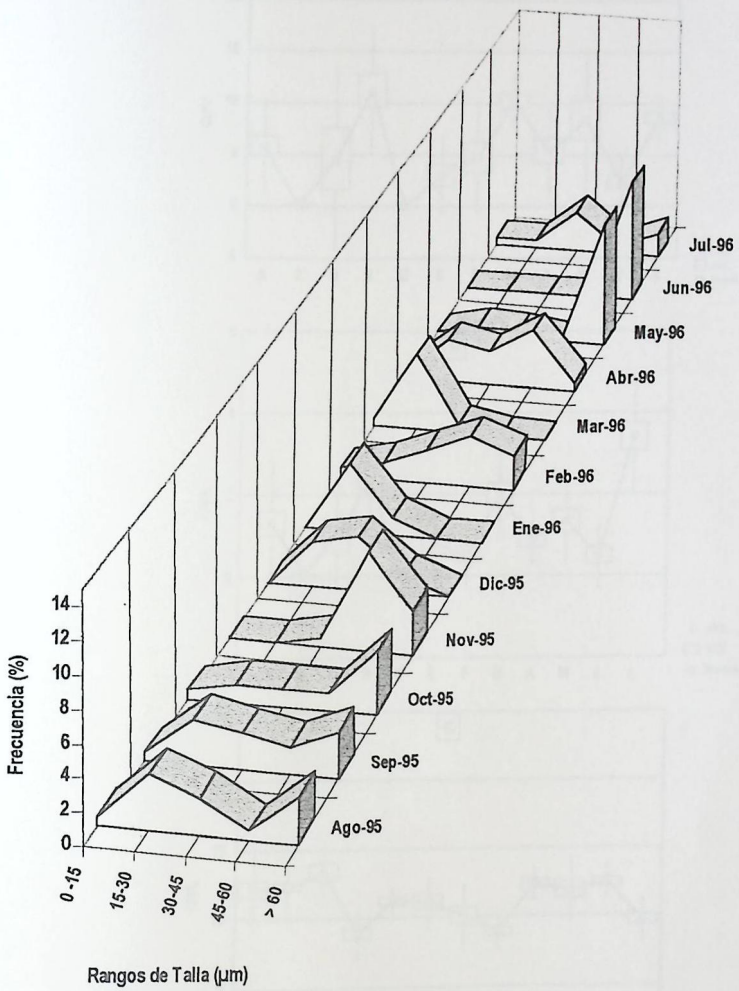


FIGURA 24. Composición por rangos de talla de la altura de la línea germinal avanzada (LGA) de ***Fissurella latimarginata***. Los Vilos. Machos.

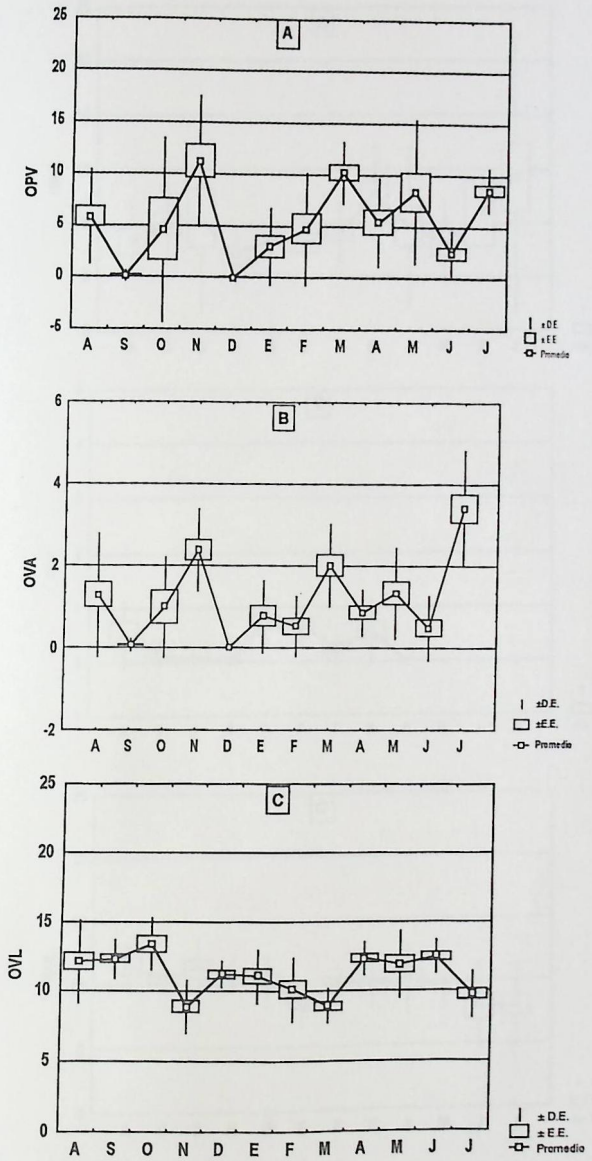


FIGURA 25. Distribución mensual del número de ovocitos por área de ***Fissurella latimarginata***. Punta Coloso. Hembras. (A): ovocitos previtelogénicos (OPV); (B): ovocitos vitelogénicos adheridos (OVA); (C): ovocitos vitelogénicos libres (OVL).

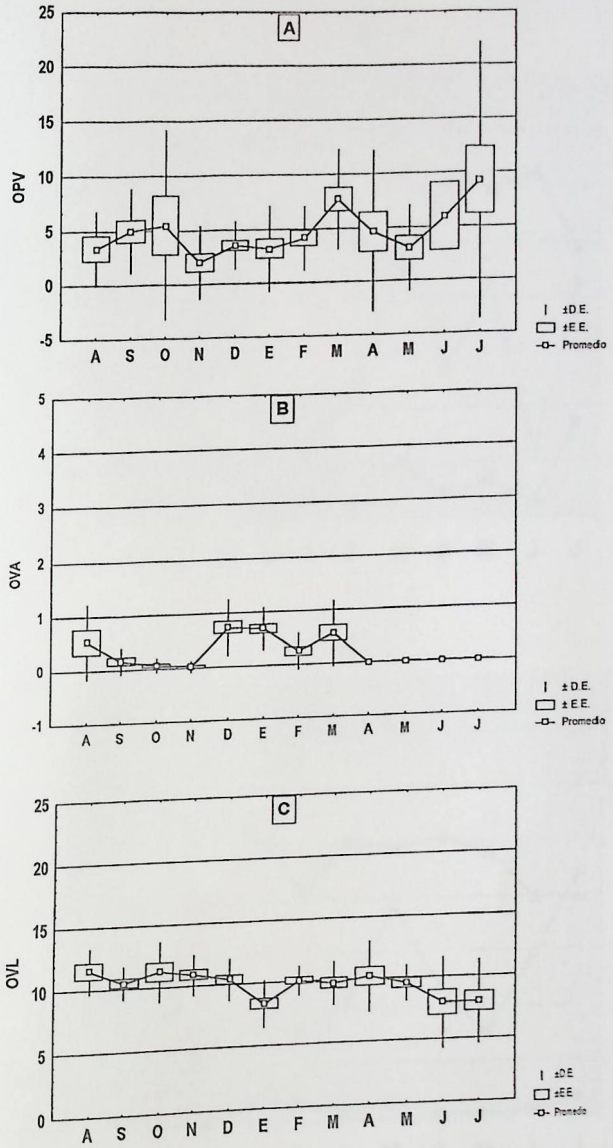


FIGURA 26. Distribución mensual del número de ovocitos por área de ***Fissurella latimarginata***. Los Vilos. Hembras. (A): ovocitos previtelogénicos (OPV); (B): ovocitos vitelogénicos adheridos (OVA); (C): ovocitos vitelogénicos libres (OVL).

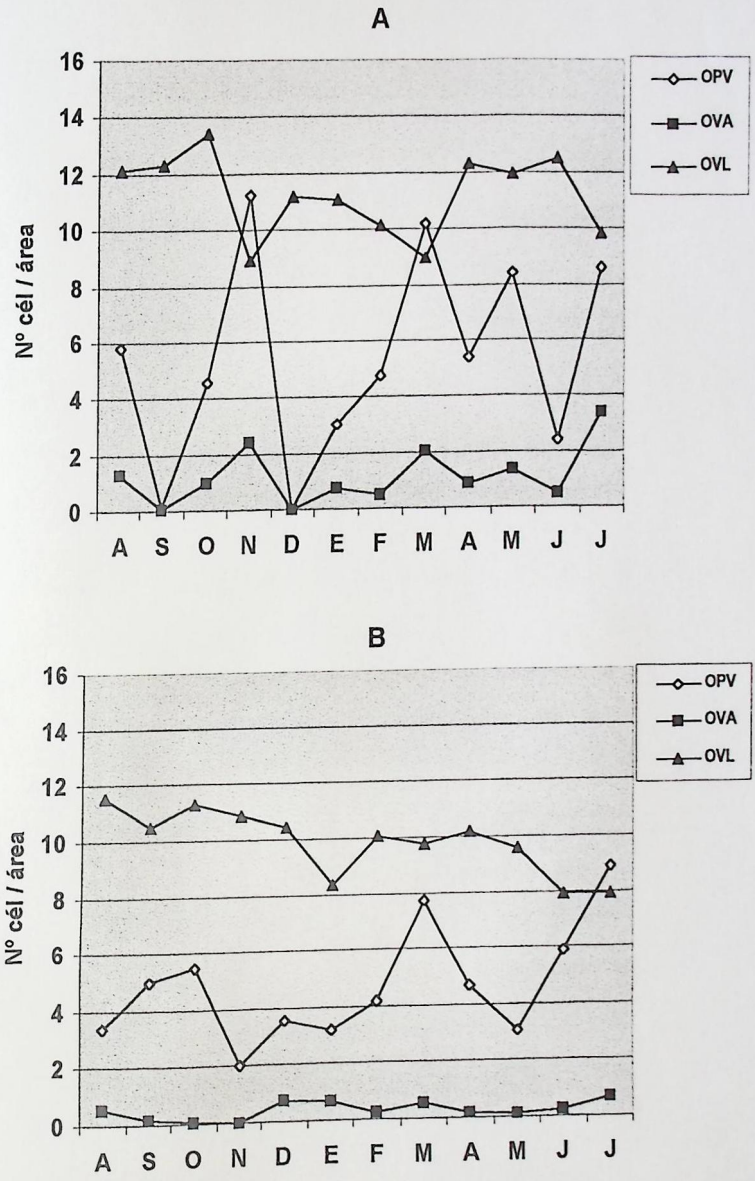


FIGURA 27. Comparación del número de tipos celulares de la línea germinal femenina. (A): Punta Coloso; (B): Los Vilos. OPV: ovocitos previtelogénicos; OVA: ovocitos vitelogénicos adheridos; OVL: ovocitos vitelogénicos libres.